

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1901

THÈSE

N°

208

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue le mercredi 5 Juin 1901 à 1 heure

Par HENRI-JULES COTTE

Pharmacien de 1^{re} classe

Licencié ès-sciences

Chef des travaux pratiques d'histoire naturelle
à l'Ecole de médecine et de pharmacie de Marseille

NOTES BIOLOGIQUES

SUR LE

SUBERITES DOMUNCULA

(SPONGIAIRES)

Président : M. RICHET, professeur.

Juges } MM. KIRMISSON, professeur.
BROCA (Aug.) et HEIM, agrégés.

Le Candidat répondra aux questions qui lui seront faites sur les diverses parties de l'enseignement médical.

PARIS

L. BOYER

IMPRIMEUR DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

15, rue Racine, 15

1901

398

THÈSE

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE



Digitized by the Internet Archive
in 2026

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1901

THÈSE

N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue le mercredi 5 Juin 1901 à 1 heure

Par HENRI-JULES COTTE

Pharmacien de 1^{re} classe

Licencié ès-sciences

Chef des travaux pratiques d'histoire naturelle
à l'Ecole de médecine et de pharmacie de Marseille

NOTES BIOLOGIQUES

SUR LE

SUBERITES DOMUNCULA

(SPONGIAIRES)

Président : M. RICHET, professeur.

*Juges } MM. KIRMISSON, professeur.
BROCA (Aug.) et HEIM, agrégés.*

*Le Candidat répondra aux questions qui lui seront faites sur les diverses parties
de l'enseignement médical.*

PARIS

L. BOYER

IMPRIMEUR DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

15, rue Racine, 15

1901

FACULTE DE MEDICINE DE PARIS

Doyen.		M. BROUARDEL	
Professeurs		MM.	
Anatomie		FARABEUF.	
Physiologie		CH. RICHEL.	
Physique médicale.		GARIEL.	
Chimie organique et chimie minérale.		GAUTIER.	
Histoire naturelle médicale.		BLANCHARD.	
Pathologie et thérapeutique générales.		ROUCHARD.	
Pat.ologie médicale.		HUTINEL.	
Pathologie chirurgicale.		BRISAUD.	
Anatomie pathologique		LANNELONGUE	
Histologie.		CORNIL.	
Opérations et appareils.		MATHIAS DUVAL	
Matière médicale et pharmacologie.		BERGER.	
Thérapeutique		POUCHET.	
Hygiène.		LANDOUZY	
Médecine légale.		PROUST.	
Histoire de la médecine et de la chirurgie		BROUARDEL.	
Pathologie expérimentale et comparée.		N.....	
		CHANTEMESSE.	
		JACCOUD.	
		HAYEM.	
		DIEULAFOY	
		DEBOVE.	
		GRANCHER.	
Clinique médicale.			
Maladie des enfants.		JOFFROY.	
Clinique de pathologie mentale et des maladies de l'encéphale		FOURNIER.	
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.		RAYMOND.	
Clinique des maladies du système nerveux.		TERRIER.	
		DUPLAY.	
Clinique chirurgicale.		LE DENTU.	
		TILLAUX.	
Clinique ophthalmologique.		PANAS.	
Clinique des maladies des voies urinaires.		GUYON.	
Clinique d'accouchements.		BUDIN.	
Clinique gynécologique.		PINARD.	
Clinique chirurgicale infantile.		POZZI.	
		KIRMISSON.	
Agrégés en exercice.			
MM.	DESGREZ	LEGUEU	TEISSIER
ACHARD	DUPRE	LEJARS	THIERY
ALBARRAN	FAURE	LEPAGE	THIROLOIX
ANDRE	GAUCHER	MARFAN	THOINOT
BONNAIRE	GILLES DE LA	MAUCLAIRE	VAQUEZ
BROCA (Aug.)	TOURETTE	MENETRIER	VARNIER
BROCA (André)	HARTMANN	MERY	WALLICH
CHARAIN	HEIM	REMY	WALTHER
CHASSEVANT	LANGLOIS	ROGER	WIDAL
DELBET	LAUNOIS	SEBILLEAU	WURTZ

Chef des Travaux anatomiques : M. RIEFFEL.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A MA MÈRE

MEIS ET AMICIS

A MONSIEUR LE PROFESSEUR JOURDAN

Professeur de Physiologie à la Faculté des Sciences.
Professeur d'Histologie à l'Ecole de Médecine de Marseille.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR RICHET

Membre de l'Académie de médecine
Chevalier de la Légion d'honneur
Professeur de Physiologie à la Faculté de Médecine de Paris

*qui m'a fait le très grand honneur
d'accepter la présidence de cette thèse.*

NOTES BIOLOGIQUES

SUR LE

SUBERITES DOMUNCULA

(SPONGIAIRES)

INTRODUCTION

La physiologie des animaux inférieurs est encore bien obscure pour nous; sur celle des Spongiaires, notamment, nos connaissances sont extrêmement limitées. Ça et là, dans les nombreux travaux dont ces animaux ont été l'objet, on trouve des renseignements intéressants sur leur physiologie ou sur leur composition chimique. Un certain nombre de ces publications sont notées dans l'Index bibliographique qui termine ce travail; mais je dois citer dès maintenant les auteurs dont les recherches m'ont plus directement inspiré. Frédéricq, en 1878, a cru trouver une trypsine chez des éponges indéterminées; Krukenberg, dont les mémoires constituent une mine pré-

cieuse de renseignements biologiques, a retiré de ces animaux, vers la même époque, une amylase, une pepsine et une trypsine ; Griffiths, en 1892, assimile aussi leur ferment digestif à la pancréatine, mélange de trypsine, d'amylase et de lipase ; en 1898, Loisel découvre une oxydase dans la Spongille. J'ai été assez heureux pour rencontrer dans le *Suberites domuncula* une espèce particulièrement riche en ferments solubles et pour accroître la liste des diastases signalées chez les éponges.

Dans l'espoir que cette étude pourrait présenter quelque intérêt, je me suis livré au dosage élémentaire du corps du *Suberites* et à l'examen de quelques-unes des matières qui entrent dans sa composition. C'est par l'exposé de ces recherches que commence ce travail ; je les ferai précéder cependant de quelques considérations sur la symbiose, depuis longtemps connue, qui associe le Spongiaire à des Pagures d'espèces variées.

Tel est le plan général de ce travail. Avant de l'aborder, qu'il me soit permis de remercier mon excellent Maître, M. le Professeur Jourdan, dont j'ai eu l'honneur de suivre les cours à la Faculté des Sciences et à l'Ecole de Médecine. Ces recherches ont été entreprises sur les conseils éclairés de ce Maître bienveillant et poursuivies dans son laboratoire. Qu'il reçoive ici l'expression de ma vive gratitude.

Je remercie aussi M. le Professeur Rietsch qui ne m'a pas ménagé ses précieux conseils ; il m'a ouvert à nouveau ses laboratoires de chimie et de bactériologie, dont les ressources m'ont permis de faire quelques-unes de mes expériences et mes essais de culture artificielle.

M. le Professeur Berg a bien voulu se charger des dosages du carbone et de l'hydrogène, que je n'aurais pas osé entreprendre moi-même ; je lui en suis très sincèrement reconnaissant.

Mes Maîtres de l'Ecole de Médecine de Marseille m'ont plus d'une fois donné les preuves d'une sympathie dont j'ai apprécié toute la valeur. Je prie notamment MM. les Professeurs Bouisson, Fr. Arnaud, Hœckel, Alezais, Combalat, Caillol de Poncey de croire à mon reconnaissant souvenir.

HABITAT ET SYMBIOSE DU SUBERITES

Le *Suberites domuncula* est une Monaxonide de la famille des Subéritidées. Il est de forme généralement globuleuse, pouvant acquérir le volume d'une tête d'enfant nouveau-né, et de couleur orangé, ce qui lui a valu son nom marseillais d'« orange ». Van Beneden (38) dit que les pêcheurs italiens l'appellent « *Perella di mare* » et les marseillais « *Reclus marins* ». Ce dernier nom paraît actuellement inconnu à Marseille; d'ailleurs il doit y avoir là une erreur de l'auteur qui aura attribué à l'éponge quelque nom vulgaire du Bernard-l'Hermite. Celesia (6) nous apprend qu'à Gênes on lui donne les noms de « *tomate* » ou « *limoin* », suivant qu'il est rouge ou jaune, et à Naples de « *portualli* » (oranges).

Son aire de diffusion est très vaste ; dans notre golfe il habite en grande abondance les prairies de *Posidonia*, au voisinage des fonds vaseux, dans les profondeurs de 25 à 100 m. environ. Nos pêcheurs le draguent volontiers dans leurs chaluts pour le revendre aux amateurs ; ceux-ci amorcent leurs lignes avec le crustacé contenu dans son intérieur, appelé « *piado* » ou « *piadon* ». Aussi est-il très facile de se procurer ce Spongiaire dans un grand état de fraîcheur, sur nos quais, ou vivant, grâce aux ressources du Laboratoire de Zoologie Maritime d'Endoumes.

Les chiffres en caractères gras se rapportent aux numéros de l'Index bibliographique.

Depuis assez longtemps l'attention des naturalistes a été attirée sur lui à cause du commensalisme très étroit dans lequel il vit avec des Crustacés qui, dans notre golfe, appartiennent aux espèces *Pagurus striatus*, *Paguristes maculatus*, *Eupagurus Lucasii*, *Eup. excavatus* (P. Gourret, 12).

Logé dans un canal en spirale creusé dans l'intérieur du *Suberites*, protégé de ses ennemis par cette épaisse enveloppe dont aucun animal marin ne fait sa proie, le Bernard-l'Hermite reste embusqué dans cet antre, toujours à l'affût, et happe au passage les aliments qui se présentent à sa portée. L'éponge, de son côté, trouve son bénéfice dans cette association; elle courrait grand risque, à la suite de profonds remous ou pour toute autre cause, d'être envasée dans les fonds qu'elle habite. Lorsque cet accident se produit, le Pagure charrie son habitation dans des régions plus favorables pour elle et pour lui.

Il est à croire également que le *Suberites* y trouve avantage au point de vue de son alimentation; constamment à la recherche des endroits les plus riches en matières nutritives, le crustacé promène en même temps son commensal dans des lieux qui doivent avantageusement convenir à la nourriture de celui-ci. Peut-être même, ainsi que l'admet Topsent (36), les détritiques des repas du Pagure servent-ils à l'alimentation du *Suberites* en chargeant l'eau autour de lui de matières organiques en suspension. Cette hypothèse est à rapprocher des observations de Faurot (172), qui, dans une association analogue entre le *Pagurus Prideauxi* et une Actinie, l'*Adamsia palliata*, a vu que celle-ci, bouche à bouche avec

son hôte, ingère parfois la plus grande partie des aliments que celui-ci essaie de diviser. Nous ne sommes pas encore fixés sur la nature exacte des aliments des Eponges, en général ; en tous cas, l'étroitesse de leurs pores inhalants en interdit l'entrée aux fragments volumineux. On ne peut donc admettre que le *Suberites* bénéficie aussi directement que l'*Adamsia* des matières nutritives que le Pagure cherche à ingérer. Néanmoins nous sommes en présence d'une association si étroite qu'il n'est pas exagéré de prononcer pour elle le mot de symbiose.

Ce n'est pas que cette association soit nécessaire pour le Pagure. Il bénéficie de la présence du Spongiaire qui lui fournit un abri commode, une demeure sûre, et lui évite l'ennui et les dangers d'avoir à changer de domicile à mesure que sa taille s'accroît. Peut-être en recueille-t-il des avantages d'un autre ordre, d'un ordre inconnu de nous, mais dont nous pouvons supposer l'existence, après les expériences de Faurot. Cet auteur, corroborant les observations de Percival Wright, a vu que des Pagures (*P. Bernhardus*, *P. striatus*, *P. angulatus*) auxquels on avait enlevé l'Actinie (*Sagartia parasitica*) qu'ils portaient, quittaient après trente-six heures au plus leur demeure du moment pour aller s'abriter dans d'autres coquilles vides sur lesquelles se trouvait une Actinie. Faurot a même observé des Pagures allant chercher des *Sagartia*, les saisissant entre leurs pattes-pinces et leurs pattes-mâchoires, et les fixant sur leur coquille. On retrouve les mêmes faits, avec plus de netteté encore, dans le cas du *Pagurus Prideauxi* et de l'*Adamsia palliata*, déjà cités, où l'association est beaucoup plus étroite, si bien que l'on

peut caractériser une des espèces par la présence de l'autre. Le même auteur a pu remarquer un Pagure non adamsié quittant l'abri sûr de sa coquille pour aller s'emparer d'un *Adamsia* trop petit qui, semblable à un habit trop court, laissait à découvert une partie de son corps, si vulnérable cependant.

Il est possible que dans ces associations le crustacé cherche plus qu'une simple protection : dans le dernier cas cité, les nématocystes de l'Actinie ne jouent ce rôle que d'une façon somme toute imparfaite, plus imparfaite assurément que ne le fait une coquille. Et il devient facile d'admettre que dans le cas du *Suberites* il y a un fait analogue, et que le Pagure retire de cette symbiose des bénéfices échappant à notre évaluation; tout en remarquant une fois de plus qu'il n'en a pas un besoin absolu, et qu'il se développe très bien sans Eponge, de même qu'il peut vivre aisément sans Actinie.

On ne peut en dire autant de l'autre commensal : si l'on trouve beaucoup de Pagures sans Spongiaire, on ne trouve que par exception des éponges sans crustacé, le Pagure pouvant cependant être parfois remplacé par un *Dromia*, ainsi que le signale déjà Renier (cité par Celesia). Dans la presque universalité des cas, l'association du *Subdomuncula* se fait avec un Pagure, et de cela il doit y avoir une raison cachée pour nous. Car il est certain que les larves du Spongiaire tendent à se fixer sur toutes sortes d'objets, sur des pierres, des polypiers, des tubes d'Annélides, etc...; aucune de celles-là ne survit. Se développent seules celles qui ont pu s'attacher à une coquille habitée par un Bernard-l'Hermite. Ce qui semblerait prou-

ver que l'éponge ne peut se développer que lorsqu'elle a pu rencontrer une coquille parasitée, parce qu'elle ne peut s'accommoder d'une position sédentaire. C'était déjà l'opinion de Renier, c'est celle de Cuénot (8), de Delage et Hérouard (53); *Celesia* et Topsent pensent le contraire. Ce dernier auteur dit que le *Suberites* « ménage d'abord la bouche de la coquille, ce qui permet à un *Pagure* d'y chercher un abri. » *Celesia* n'admet pas l'opinion de Renier et la trouve « téléologique parce qu'elle ferait supposer une prédilection de la part de l'éponge ». Certes, si l'on veut y voir un acte commandé par l'instinct, cela ne se discute pas. Mais sommes-nous sûrs qu'il n'y ait pas là une prédilection d'ordre physiologique, pour ainsi dire, une sélection qui se fait sous l'influence de règles inconnues et qui frappe de mort tous les individus dont les conditions biologiques n'obéissent pas à une loi déterminée ?

Car si le *Pagure* devait choisir avec élection des coquilles recouvertes de *Suberites*, il ne pourrait le faire, à cause de l'imperfection relative de ses organes visuels, que lorsque l'éponge, d'un volume bien appréciable et à teintes vives, aurait déjà acquis un certain développement, et d'autre part n'aurait pas encore obstrué l'ouverture de la coquille. Ce ne serait donc que pendant un moment seulement de la vie du *Spongiaire* que pourrait s'établir l'association, et une conclusion s'imposerait, c'est que l'on devrait trouver des individus pêchés aux différents moments de leur existence : avant que la symbiose soit établie, pendant cette même symbiose, ou alors qu'elle n'est plus possible, l'accroissement du *Spongiaire* ayant

obstrué l'orifice de la coquille. N'est-ce pas l'inverse qui est signalé par les auteurs, qui s'impose par l'observation de tous les jours? Est-ce que dans toute éponge il n'y a pas un Pagure, ou la place pour le loger, ce canal spiral que l'on peut trouver vide par extraordinaire, mais dont la présence prouve que le domicile vient à peine d'être abandonné?

Un argument de plus en faveur de la thèse que je soutiens est fourni par la constante identité des coquilles qui ont servi de support au Spongiaire : hors des *Cerithium*, des *Trochus*, du *Murex trunculus*, de quelques espèces encore, on ne trouve pas de restes d'autres Gastéropodes à l'intérieur du *Suberites*. C'est le contraire qui devrait arriver si la larve de l'éponge se fixait la première. Pourquoi rencontrer seulement des coquilles de Gastéropodes? Toute coquille devrait pouvoir être utilisée comme support, ainsi que d'autres débris analogues (pierres perforées ou non, tubes d'Annélides, etc). Puisque le *Suberites* ne renferme que les coquilles dont le Pagure fait sa demeure exclusive, on est obligé d'admettre que le crustacé a fait son choix le premier. Il est bien vrai que l'on trouve à l'intérieur de l'éponge toutes sortes d'objets, englobés pendant son développement ; mais il est toujours facile de reconnaître la coquille autour de laquelle s'est fait le revêtement initial. De celle-là seule l'ouverture est intacte, ou sert de début évident au canal spiral : l'ouverture des autres est obstruée.

Celesia a cependant signalé une exception à cette règle, car il a trouvé un fragment rouge, de petites dimensions, fixé sur un autre organisme immobile ; il a essayé de

l'identifier avec le *Sub. domuncula*. Cette identité fût-elle définitivement établie, nous pourrions nous trouver en présence d'une monstruosité, d'un cas tératologique sans signification précise. Nous remarquerons toutefois que nous ne connaissons pas du tout les conditions biologiques dans lesquelles se trouvait le support de ce spécimen unique ; nous n'avons pas envisagé non plus la possibilité d'une fixation accidentelle sur lui d'un fragment, récemment détaché, de *Suberites* normal et normalement développé. Signalons cependant dans cet ordre d'idées que l'on rencontre très exceptionnellement, sur des *Murex trunculus* vivants, un enduit rouge que sa spiculation permet de rapporter au *Sub. domuncula*. Ces individus restent revêtants, encroûtants ; ils ne se trouvent pas dans des conditions physiologiques qui leur permettent d'acquérir une taille normale.

La présence fréquente de tubes de *Serpules* à l'intérieur des coquilles parasitées, si elle est l'indice que le Pagure n'a pas dans ces cas succédé immédiatement à un Gastéropode vivant, qu'il n'a pas pris sa place dans une association préexistante avec le Spongiaire, ne peut rien prouver de plus. Elle ne démontre nullement que le stade, qui a précédé l'invasion du Pagure et pendant lequel les *Serpules* ont maçonné leurs galeries, a coïncidé avec la fixation du *Suberites*. *Celesia* fournit en faveur de son hypothèse un autre argument qui n'est pas davantage démonstratif ; il le tire du cas du *Dromia*, qui s'abrite parfois sous un revêtement de *Suberites* pour se cacher de ses ennemis. Vosmaer admet que le *Dromia* se place sur le dos une jeune éponge développée sur une petite coquille ; *Celesia* ajoute : « ou développée sur le sol ». La

nécessité de cette addition n'est nullement démontrée, la preuve de son exactitude est encore à faire. Nous ne savons pas d'ailleurs si les larves ciliées du Spongiaire ne viennent pas se fixer d'elles-mêmes sur la carapace du Crustacé. Des renseignements que nous fournit l'observation journalière, une conclusion paraît forcément découler, c'est que les larves de l'éponge n'arrivent à se développer complètement que lorsqu'elles ont pu rencontrer une coquille habitée par un Bernard-l'Hermite ; quelques individus acceptent de vivre sur des Dromia. On ne les trouve sur d'autres animaux marins que très exceptionnellement, et ils n'y acquièrent pas leur développement normal.

En comparant ces faits avec ceux que fournit l'étude de la *Ficulina ficus*, nous voyons que cette dernière éponge, dont la variété « *suberea* » ressemble beaucoup au *Subdomuncula*, présente des phénomènes de symbiose identiques à ceux que le *Suberites* nous permet de considérer, et avec les mêmes Pagures. Il est très intéressant de voir ces phénomènes de même ordre s'accomplir de façon aussi identique chez des animaux présentant une aussi grande ressemblance morphologique. Cependant, ainsi que Schmidt (30) l'a remarqué, cette symbiose est bien moins fréquente pour *Ficulina ficus*, qui très souvent se développe sur des coquilles vides de manière à en obstruer l'orifice, ou à rendre le déplacement impossible pour un Pagure qui viendrait y chercher un abri (Top-sent). On voit que chez le *Suberites* l'évolution s'est faite d'une façon plus complète ; la symbiose qui, au début, a dû être facultative pour lui comme pour la *Ficulina ficus*, est devenue actuellement nécessaire, tendant

sans doute à devenir graduellement plus étroite encore par l'exclusion successive de commensaux autrefois acceptés favorablement, tels que les Gastéropodes et animaux analogues.

Suivons maintenant le développement du Suberites. Revêtant au début, il s'étend de proche en proche, de manière à recouvrir son support d'une couche mince à peu près uniforme. Remarquons en passant que si le Spongiaire devait se nourrir principalement des débris que le crustacé rejette ou laisse échapper, l'accroissement semblerait devoir surtout se faire, dès le début, vers la région la plus riche en matières nutritives, l'ouverture de la coquille.

Plus tard, une fois le support entièrement revêtu, c'est bien en ce point que le développement est le plus intense ; aussi l'ensemble, avant d'en arriver à acquérir la forme globuleuse, ressemble d'abord à une toupie dont la pointe est représentée par celle de la coquille. La spirale de celle-ci est continuée dans le corps du Spongiaire par une spirale de même sens, mais de diamètre régulièrement croissant, et en rapport avec le volume du crustacé, qui augmente dans le même temps. On peut à ce sujet poser une règle générale ; une grosse éponge renferme un gros Pagure, une petite, un petit Pagure. Lorsque le Spongiaire s'est de bonne heure associé à son commensal, quand il s'est fixé sur une petite coquille abritant un jeune crustacé, on trouve souvent plus tard, à la dissection du canal spiral, un énorme Bernard-l'Hermite incapable de faire rentrer la plus petite partie de son corps dans la coquille qui lui avait primitivement servi d'asile, et dont

L'ouverture a pu même être obstruée depuis longtemps. Quand l'umbo de la coquille est long, il sert de columelle, et le canal du Suberites peut continuer la spirale de la coquille avec une grande exactitude ; d'autres fois la spirale est très irrégulière. La marche de ce phénomène et la rapidité de la rotation ont été étudiées avec beaucoup de soin par Celesia, qui s'est livré à des mensurations exactes sur 34 échantillons. Les lois qu'il en a déduites ne sont cependant pas d'une rigueur absolue, comme toutes les lois de ce genre ; car il faut y faire intervenir des variables impossibles à déterminer : la prédisposition individuelle et les conditions biologiques. Tel individu deviendra très volumineux et aura un canal à spirale très lâche ; tel autre restera nain, soit qu'il appartienne à une variété « nana », soit plutôt qu'il ne se trouve pas dans des conditions favorables à son développement. Il n'est pas rare de trouver des Suberites, de taille très réduite et presque entièrement constitués par le canal spiral, très tassé sur lui-même et renfermant un Pagure, petit lui aussi. C'est à peine si l'ongle peut décortiquer autour de ce tube une couche assez mince du choanosome de l'éponge. Lorsque, dès le début, l'accroissement du Spongiaire se fait presque uniquement au niveau de l'ouverture de la coquille, on aura un canal dont les tours de spire seront très rapprochés ; si l'éponge tend au contraire à prendre le plus tôt possible la forme globuleuse, la spirale sera lâche. Telle paraît être la seule loi générale que l'on puisse poser.

Est-il la peine de faire remarquer que le canal est constitué par l'éponge elle-même, au fur et à mesure de son

développement, et n'est pas le moule des dernières spires de la coquille, détruites par le Suberites ? Cette dernière opinion a été soutenue (Cuénot), mais une étude attentive des faits a permis de la rejeter. A l'inverse des Clionides, les Subéritides ne paraissent pas capables d'exercer sur les corps calcaires une action corrosive certaine ; Krukenberg (cité par Celesia) s'en est assuré directement. Un autre argument dans ce sens peut être encore tiré de ce fait que les Suberites se hâtent de recouvrir leur support d'une couche de gemmules (Topsent).

Des animaux, autres que le Pagure, s'abritent encore dans l'intérieur de l'éponge avec plus ou moins de fréquence : un Amphipode, le *Tritaeta gibbosa*, se tient parfois dans les canaux exhalants les plus volumineux ; d'ordinaire il se cache dans de petites cavités communiquant avec l'extérieur par une ouverture en forme de fente linéaire, que l'animal ferme à volonté en accolant les deux lèvres avec ses pattes. On y trouve aussi des Syllidiens (*Syllis*, *Haplosyllis hamata*), des Néréidiens (*Nereis hircinicola*) (Marion, 20, p. 68), le *Stephanoscyphus mirabilis* (Topsent, 36)(1). Quelques algues y vivent aussi, sans doute dans une espèce de symbiose avec leur hôte. Cette expression dans tous les cas ne peut être prononcée que pour elles seules, les animaux cités ne paraissant être que de simples commensaux.

L'existence de ces associations gêne beaucoup pour l'étude biologique des Eponges et, toutes les fois que l'on

1. Lendenfeld (18) a donné récemment une nouvelle liste des commensaux du Sub. domuncula ; mais je n'ai pas pu consulter son mémoire.

est arrivé à un résultat, on doit se poser le même point d'interrogation : les données de l'analyse chimique, les diastases observées doivent-elles être mises sur le compte du Suberites ou de ses commensaux ? Avec quelques précautions on arrive à éliminer à peu près la cause d'erreur due aux Amphipodes ou autres animaux de même taille ; restent ceux qui échappent à l'œil nu et les Algues. Aussi peut-il persister parfois un peu d'hésitation au sujet des conclusions à poser ; on peut croire cependant approcher de la vérité quand on observe des résultats identiques en opérant sur des lots de Suberites, pêchés en des points du golfe différents et pouvant par conséquent renfermer une faune qui ne soit pas toujours identique. D'ailleurs la masse des commensaux est si faible d'ordinaire par rapport à celle du Spongiaire, — il suffit de trier ses échantillons, — qu'il ne sera pas illogique de rapporter au Sub. domuncula lui-même les actions diastasiques qui se manifesteront avec une intensité suffisante.

ANALYSES ET DOSAGES

Dans un mélange aussi complexe que le corps d'un Spongiaire, les données de l'analyse élémentaire ne peuvent pas fournir des renseignements bien précieux. Dans cet assemblage de systèmes différents : spicules, système aquifère, etc., dont chacun peut subir les variations individuelles les plus étendues, il faut s'attendre à retrouver les mêmes variations dans la proportion des principes constitutifs. J'ai cru cependant devoir me livrer à quelques analyses sur le *Suberites domuncula*, car cette étude n'a pas été encore faite, à ma connaissance du moins. Je ne suis pas disposé à admettre l'opinion de von Bezold, de Krukenberg et d'autres, qui croient pouvoir tirer de ces dosages des conclusions importantes. S'il est vrai que d'une façon générale les proportions d'eau, de sels, etc. dans un organisme donné et à un moment donné de son existence, sont régies par des lois, ces lois ne peuvent être déduites que d'un nombre très grand de déterminations, et ne peuvent pas avoir pour nous plus qu'une valeur théorique. Nous ne pourrions jamais les appliquer dans la pratique, à cause de la grande étendue des variations possibles, d'ordre physiologique ou pathologique, à cause des exceptions qui sont toujours bien plus nombreuses que les cas conformes à la règle.

Voici le procédé opératoire qui a été suivi: Un échantillon de Suberites, de volume moyen et d'une belle couleur, tenu pendant quelques heures après la pêche dans de l'eau de mer d'où il était sorti depuis peu de temps, fut débité en tranches minces perpendiculaires à sa surface, de façon à intéresser dans chaque coupe à la fois l'ectosome, le choanosome et la paroi du canal spiral. Le scalpel ne rencontra aucun parasite apparent. Une prise d'essai de 5 gr. 582 fut maintenue à l'étuve à 100° jusqu'à cessation de perte de poids; le résidu fut de 1 gr. 494.

La substance desséchée fut ensuite calcinée dans un four à moufle à cinq becs; les cendres n'étaient pas entièrement blanches, elles gardaient une teinte grise que Krukenberg (148, p. 101) conseille de négliger. Pour la faire disparaître, en effet, il faudrait chauffer très longtemps et avec un dispositif spécial, et les pertes par volatilisation viendraient fausser les résultats plus que ne le fait la petite quantité de carbone non éliminée. Le poids des cendres a été de 0 gr. 907.

Ces cendres ayant été perdues à la suite d'un accident, j'ai incinéré une autre partie du même individu et pilé dans un mortier le résidu ainsi obtenu. Une prise d'essai de 0, gr. 9771 a été lessivée à chaud avec de l'eau aiguisée d'acide azotique, jusqu'à ce que le volume des eaux de lavage ait été de 50 cc. Le résidu, qui n'abandonnait plus rien à l'eau acidulée bouillante, fut incinéré et compté comme silice; son poids était de 0, gr. 8522.

10 cc. des eaux de lavage furent dosés, après neutralisation à l'ammoniaque, par une solution d'azotate d'argent dont 10 cc. représentaient 0, gr. 06369 de chlorure

de sodium ; 1 cc.8 de liqueur argentique furent nécessaires.

Sur 10 cc. les sulfates furent dosés et pesés à l'état de sulfate de baryte ; poids du précipité obtenu, 0, gr. 0155.

10 cc ont servi au dosage des phosphates par la précipitation à l'état de phosphate ammoniaco-magnésien, puis calcination. Le poids du pyrophosphate de magnésie a été de 0, gr. 0018.

Les 20 cc. restants furent évaporés à 100° jusqu'à siccité, puis le résidu repris par quelques gouttes d'eau bouillante et neutralisé : sur une moitié les réactifs des sels de fer n'ont décelé aucune trace de ce métal.

Sur une autre moitié, l'addition de potasse a fait apparaître une légère coloration brune, qui à la calcination s'est transformée en une teinte verte très faible, mais caractéristique cependant de la présence du manganèse. Une expérience de contrôle, faite avec les réactifs employés, est restée sans résultat.

Le dosage organique, dont je dois à l'obligeance de M. le Professeur Berg de pouvoir fournir les résultats, a été fait sur une prise d'essai de 0 gr. 483 de matière séchée à 100°. Il a été trouvé 0 gr. 3202 d'acide carbonique formé, 0 gr. 1192 d'eau.

Le dosage de l'iode a été effectué, toujours sur des fragments desséchés à l'étuve à 100°, puis dans la cage à acide sulfurique, à l'aide du procédé Rabourdin, modifié par Schlagdenhauffen et Pagel (165). 5 gr. de matière ont été chauffés avec de la potasse caustique ; le résidu, repris par de l'eau distillée et acidifié à l'acide sulfurique, a été additionné de XV gouttes d'acide nitrique. Le sulfure de carbone a pris une légère coloration vio-

lette, correspondant à environ $1/20$ de milligramme d'iode; mais au bout d'une heure, j'ai constaté que cette teinte avait disparu et avait été remplacée par une teinte jaune très faible. Par l'addition de deux à trois gouttes d'eau de chlore, le sulfure de carbone a pris très nettement la couleur des solutions de brome; par comparaison avec des solutions titrées de bromure de potassium, j'ai pu reconnaître que la teinte observée était comprise entre celles des solutions renfermant 2 mgr. et 2 mgr. 5 de brome, mais plus rapprochée de la première cependant. Je l'ai évaluée à 2 mgr. 2 environ. Ainsi qu'on le voit, la présence de l'iode, qui avait été déjà observée dans la même espèce par Renier (cité par Celesia) est bien confirmée; mais ce métalloïde n'existait qu'en quantité très faible dans l'individu que j'ai analysé: un milligramme environ pour 100 gr. de matière sèche, ce qui fait environ 0 mgr. 27 pour 100 gr. de Suberites vivant. Par contre le brome, qui, à ma connaissance, n'avait pas encore été signalé, s'y rencontrait en assez forte proportion, de 40 à 50 fois plus.

En admettant arbitrairement que la moitié de l'eau du Spongiaire se trouve dans les canaux à l'état d'eau de mer, avec sa constitution propre, nous aurions un chiffre de 36,61 d'eau de mer pour cent d'animal. D'après Gautier (139) l'eau du Golfe du Lion renfermerait par litre 2 mgr. 246 d'iode total; soit 0 mgr. 08223 pour l'eau de mer contenue dans l'éponge. Il reste donc établi qu'une partie du métalloïde est combinée dans le corps du Suberites et qu'il n'est pas entièrement à l'état de dissolution dans l'eau de circulation. Il en est de même pour le brome.

La recherche de l'arsenic n'avait pas encore été faite, je crois, chez les Spongiaires. D'ailleurs l'espèce est ici mal choisie, car il arrive souvent, au hasard des dragages, que les individus ramenés à la surface sont entièrement boueux à leur intérieur, et il n'y aurait rien d'étonnant à ce que, au large d'une grande ville industrielle, les dépôts vaseux soient plus riches en arsenic qu'en d'autres points du fond de la mer. La recherche a été faite sur 150 gr. de Suberites fraîchement pêchés et ne paraissant pas renfermer la moindre quantité de vase. Ils ont été divisés avec une machine à hacher, puis la destruction de la matière organique a été faite en suivant le procédé de Pagel (162). La recherche de l'arsenic a fourni un résultat absolument négatif, aussi bien sur le liquide distillé que sur le résidu de la cornue.

On peut réunir l'ensemble de ce qui précède dans le tableau ci-dessous.

	Pour cent parties d'animal	Pour cent parties de matières solides	Pour cent parties de matières organiques	Pour cent parties de cendres
Eau.....	73.23	»	»	»
Matières solides.....	26.76	»	»	»
Matières organiques..	»	39.29	»	»
Matières minérales...	»	60.71	»	»
Carbone.....	»	20.64	52.53	»
Hydrogène.....	»	3.13	7.95	»
Silice.....	»	53.01	»	87.32
Iode.....	»	0.001	»	»
Brome.....	»	0.044	»	»
Chlore.....	»	2.16	»	3.56
Soufre.....	»	0.66	»	1.09
Phosphore.....	»	0.06	»	0.10
Arsenic.....	»	0	»	»
Fer.....	»	0	»	»
Manganèse.....	»	Traces	»	»

Je rapproche de ces chiffres ceux qu'ont fourni à Krukenberg (148) des analyses effectuées sur des éponges de la mer Adriatique.

	Cent parties d'animal vivant renferment		Cent parties de matières solides renferment	
	Eau	Matières solides	Matières organiques	Matières minérales
Chondrosia reniformis (moyennes).....	84.0	16.0	85.91	14.09
Suberites domuncula I..	81.1174	18.8826	55.666	44.334
» » II..	78.893	21.107	57.436	42.564
» » III..	75.782	24.218	52.129	47.871
Moyennes pour le Sub. domuncula.....	78.6	21.4	55.1	44.9
Suberites massa (moyen- nes).....	82.2	17.8	53.0	47.0
Tethya Lynceureum (moyennes).....	74.535	25.465	43.16	56.84
Stelletta Wagneri (moyen- nes).....	77.5	22.5	36.0	64.0

Le dosage de l'eau est de tous certainement le plus sujet à variations ; car, entre les mains du même opérateur, on trouvera des différences, non seulement d'un individu à l'autre, mais encore d'un moment à l'autre chez le même individu, surtout après la mort. Dans le tableau de Krukenberg, dont je n'ai donné que le résumé, on peut remarquer que la teneur brute des Spongiaires, en eau, ne peut fournir aucun renseignement utile ; elle n'a aucun rapport apparent avec la richesse en matières minérales ou organiques. Ce résultat était à prévoir.

Ajoutons, comme renseignement bibliographique sur le Sub. domuncula, que Celesia lui attribue une densité moyenne de 1,2 à 1,4.

Je dois signaler que Murray et Irvine (103) ont émis une théorie un peu spéciale au sujet de l'origine des spicules d'éponges. D'après ces auteurs, la substance fondamentale du squelette ne serait pas empruntée aux infimes proportions de silice dissoutes dans l'eau de mer, mais proviendrait des composés siliceux des fonds marins. Sous l'influence des matières organiques en décomposition, il se produirait des sulfures alcalins qui réagiraient sur l'argile et amèneraient ainsi la dissolution d'une certaine quantité de silice; celle-ci serait alors emmagasinée par les éponges. Il est à remarquer que cette hypothèse s'applique aux seules éponges qui vivent sur le fond de la mer, et non à celles qui sont appliquées contre des rochers, presque à fleur d'eau; elle semble d'ailleurs méconnaître le merveilleux pouvoir électif de la cellule vivante à l'égard des substances que renferment les liquides dans lesquels elle baigne. Au reste elle ne constitue pas, à proprement parler, une théorie sur l'origine des spicules, mais indique seulement un des procédés multiples mis en œuvre par la nature pour désagréger les matières siliceuses des fonds marins. Que l'agent de la décomposition soit un sulfure alcalin ou toute autre substance, le résultat est le même : c'est à l'acide silicique dissous qu'est empruntée la matière fondamentale des spicules.

La silice des éponges aurait une densité variant de 2,0361 (Thoulet) à 2,04 (Sollas) et un indice de réfraction de 1,449. Sa constitution chimique la rapprocherait de l'opale, et sa formule serait $(\text{SiO}^2)^3 \text{H}^2\text{O}$ suivant Thoulet (eau 13,18 0/0), $(\text{SiO}^2)^4 \text{H}^2 \text{O}$ pour Schulze (eau 7, 16 0/0) et $(\text{SiO}^2)^5 \text{H}^2\text{O}$ pour Sollas (eau 6, 1 à 7,34 0/0).

Schneider (106) ayant signalé la présence du fer dans les gemmules d'un certain nombre d'éponges, j'ai examiné si ce même métal se retrouverait dans les gemmules du *Suberites*. A cet effet, un lot de douze individus ont été isolés de leur support avec soin ; puis les gemmules, formant une couche continue autour de la coquille, ont été détachées de celle-ci par grattage à l'aide d'un morceau de verre. Après calcination avec de l'acide azotique pur, une partie du résidu a été exactement neutralisée, puis additionnée de ferrocyanure de potassium : absence complète de coloration. Le reste du contenu du creuset, chauffé avec de la potasse caustique, a donné par contre une coloration verte très abondante. En comparant l'intensité de cette réaction avec celle qu'a donnée l'ensemble des tissus du même animal, on voit que si le manganèse ne se trouve dans le corps du *Suberites* qu'à l'état de traces, il subit dans les gemmules une accumulation très remarquable.

Il m'a paru intéressant d'étudier aussi les quelques substances suivantes, qui pourraient fournir des renseignements biologiques importants sur le *Spongiaire* dont nous nous occupons.

Mucine.

Les caractères physiques du suc de *Suberites*, sa filtration si difficile, le dépôt qui s'y forme lentement d'une matière glaireuse, permettraient de croire à la présence d'une substance analogue à la mucine. Mais l'acide acé-

tique ne produit pas à froid le moindre précipité, même après un contact prolongé. Il n'y a donc pas trace de mucine dans le suc; ce sont d'autres matières albuminoïdes qui lui donnent sa consistance et son aspect.

Albumoses et peptones.

La recherche des albumoses a été faite par le procédé de Lolke Dokkum (156). Du suc de *Suberites*, datant d'une huitaine de jours et conservé comme à l'habitude en présence d'un excès de chloroforme (voir au chapitre suivant), a été porté à l'ébullition; puis, après filtration, chauffé avec un peu d'acide acétique pour précipiter le plus possible les albumines coagulables par la chaleur. Le liquide filtré restait limpide par addition d'acide azotique. Après exacte neutralisation, la liqueur additionnée de perchlorure de fer a donné naissance à un précipité jaune brun qui, recueilli sur un filtre sans plis, s'est dissous avec la plus grande facilité dans un excès de perchlorure de fer. C'est là le caractère du précipité fourni par les albumoses.

Il n'est pas impossible toutefois que la formation d'une partie de ces albumoses soit le fait du procédé opératoire suivi, car nous ne connaissons pas la nature exacte des albumines du *Suberites*. Nous savons que le chauffage prolongé de l'albumine d'œuf avec de l'eau aboutit à la formation d'albumoses et de peptones. Une ébullition de deux heures avec des acides organiques conduit plus sûrement au même résultat; il est à noter cependant que l'acide acétique se montre un des moins actifs à ce point

de vue (Bokorny, 136). La réaction que j'ai obtenue s'est faite avec trop d'intensité, et sur un suc chauffé pendant trop peu de temps, pour que nous puissions attribuer à cette origine seule les albumoses décelées. Il est d'ailleurs logique d'admettre que, dans un suc renfermant des ferments digestifs, ainsi qu'on le verra plus loin, une partie des albuminoïdes divers qui y sont également contenus subissent une altération partielle de leurs molécules,

La réaction du biuret s'est constamment montrée négative, aussi bien sur le suc récent que sur celui qui était conservé depuis plusieurs semaines. Il n'y a donc pas formation de peptones dans ces conditions.

Graisses.

L'examen microscopique et la réaction à l'aide de l'acide osmique, faites par de nombreux naturalistes, ont permis de déceler très fréquemment la présence de graisses dans le corps des éponges, Krukenberg (148) a cherché à mettre en évidence les glycérides de ces animaux par un autre procédé : l'extrait éthéré ou éthéro-alcoolique de Spongiaires était évaporé au bain-marie, et le résidu déposé sur des bandes de papier. Après évaporation complète, les graisses étaient reconnues à la transparence que gardait le papier. Le procédé, ingénieux bien que ne présentant pas une exactitude absolue, lui a permis de reconnaître d'une façon inconstante la présence d'une huile grasse dans les *Sub. domuncula* pêchés sur les côtes de l'Adriatique. L'auteur allemand a été obligé de traiter de grandes quantités de ces animaux

pour avoir des résultats appréciables. L'inconstance de cette réaction et la difficulté de l'obtenir permettent de douter un peu de l'origine réelle de ces glycérides. Assurément cela peut s'expliquer par les variations individuelles ; mais on peut se demander d'autre part si ce ne sont pas les commensaux, crustacés ou autres, qui ont fourni la petite quantité de graisse abandonnée par l'évaporation des extraits.

J'ai essayé si l'expérience, conduite d'une façon différente, fournirait des résultats identiques. 750 grammes environ de *Suberites* vivants ont été coupés en morceaux et additionnés de 250 centimètres cubes d'eau et de 10 centimètres cubes environ de lessive de potasse, et le tout mis à filtrer, après avoir longuement bouilli au bain de sable. La solution a été additionnée d'acide chlorhydrique jusqu'à acidité franche et mise en contact avec de l'éther à plusieurs reprises. L'ensemble des liqueurs éthérées, réunies dans une boule à décantation et formant un volume de 80 c. c. environ, a été mis à écouler, goutte à goutte, sur une feuille de papier buvard de 20 centim. de côté, repliée en quatre doubles. Après dessiccation complète, le papier ne présentait pas la moindre transparence anormale ; il était seulement coloré, surtout vers les bords, par le pigment rouge que l'éther avait entraîné.

Mon intention n'est pas d'opposer ces résultats à ceux de Krukenberg ; il faut toujours tenir compte, dans les études de ce genre, des variations individuelles ou peut-être saisonnières. La présence d'une lipase dans le *Suberites* semble indiquer suffisamment que ces animaux doi-

vent renfermer des graisses, à certains moments au moins de leur existence.

Hydrates de carbone.

La présence d'hydrates de carbone chez les éponges a été constatée depuis assez longtemps. Ganin a décelé l'amidon dans la *Spongilla Mülleri*, Keller chez plusieurs autres espèces, parmi lesquelles *Geodia gigas*, *Tethya Lyncureum*, *Suberites massa* et *Suberites flavus*; Topsent il est vrai, n'a pas été aussi heureux en examinant le *Tethya Lyncureum*. La liste des espèces chez lesquelles cette recherche a donné des résultats positifs serait trop longue si on voulait la rendre complète.

En ce qui concerne le *Sub. domuncula*, il faut surtout retenir les travaux de Carter (5) qui a trouvé de l'amidon dans ce qu'il a appelé les œufs de *Suberites* et que Topsent a depuis démontré être des gemmules (33), et ceux de Krukenberg (148) qui a cherché en vain du glycogène dans le même animal.

Il est très facile de constater la présence des matières amylacées dans le Spongiaire qui nous occupe : il suffit de remarquer que la liqueur de Fehling n'est pas réduite par une décoction de *Suberites* ; elle l'est, au contraire, lorsqu'on a fait bouillir les tissus en présence d'acide sulfurique.

La recherche de l'amidon par l'eau iodée, qui m'avait donné pendant l'hiver dernier des résultats positifs vérifiés au microscope, est restée infructueuse pendant les

mois de mars et d'avril. Il est très possible qu'il y ait là des variations saisonnières, dues à des changements d'alimentation ou correspondant à une époque donnée de l'évolution des produits sexuels. C'est peut-être à une raison de ce genre qu'il faut attribuer la différence des résultats observés sur le *Tethya Lyncureum* par Keller et Topsent. Je tiens à faire observer que la réaction à l'eau iodée peut fournir des renseignements erronés quand on étudie les Spongiaires colorés par la tétronérythrine; ce pigment bleuit sous l'influence de l'iode, ainsi que l'expérience me l'a appris. Il serait possible qu'un certain nombre de travaux sur l'amidon des éponges, dans lesquels ce réactif a été utilisé, dussent être entièrement recommencés. Topsent (88), par exemple, admet que la substance fondamentale des *Reniera* renferme de l'amidon, attendu qu'elle se colore en brun violacé par l'action de l'eau iodée; malgré l'autorité incontestée de cet auteur, je crois que son observation est passible des mêmes critiques.

Reste à déterminer l'origine de cet amidon. Brandt (49) fait remarquer que l'on trouve à la fois des algues et de l'amidon dans les Spongidées, les Rénieriées et les Subéritidées; ni algues ni amidon dans les Halisarcidées, les Chondrosidées, les Chalinidées, les Chalinopsidées, les Ancorinidées, les Lithistidées, les Hexactinellidées et les Calcisponges; dans les Géodidées on a trouvé seulement de l'amidon, et uniquement des algues dans les Aplysiniées. On ne peut tirer des conclusions fermes des observations ci-dessus, qui sont d'ailleurs trop incomplètes, trop peu nombreuses encore, et basées peut-être sur des

réactions hâtives à l'eau iodée; il est impossible cependant de ne pas être frappé par une pareille coexistence. On comprend facilement que certains auteurs n'aient pas hésité à attribuer une origine végétale à l'amidon des éponges. Les algues élaboreraient de l'amidon qu'elles cèderaient au Spongiaire sous forme d'amidon soluble; en échange, elles utiliseraient l'acide carbonique exhalé par les cellules animales, et provenant en partie de la combustion de ces mêmes hydrates de carbone. Il y aurait donc une symbiose parfaitement caractérisée.

Il est possible que les choses se passent ainsi dans certains cas particuliers; en ce qui concerne le *Suberites*, je ne suis pas disposé à accepter une pareille hypothèse. Il ne m'a été donné que très exceptionnellement de rencontrer dans les tissus de cette éponge des cellules dont la nature végétale pût être discutée. D'autres observateurs ont pu trouver des individus chez lesquels l'invasion par les algues était beaucoup plus marquée; mais on ne peut élever ces exceptions à l'état de règle.

On pourrait admettre que l'amidon du *Suberites* est d'origine alimentaire. Les expériences de Lendenfeld (80), qui ne portent d'ailleurs pas sur le *Sub. domuncula*, ne nous apprennent pas grand'chose sur cette question; il a vu que les grains d'amidon ne réussissent pas en général à pénétrer dans l'éponge, arrêtés par l'étroitesse des pores inhalants. Ceux qui ont pu forcer la porte d'entrée ne paraissent pas jouer un rôle actif dans l'alimentation de l'animal, et ne sont pas absorbés par les cellules à collette. Noll, nous dit-il aussi, fait vivre ses Spongilles en les nourrissant d'amidon: Lendenfeld admet que l'ami-

don n'est assimilé qu'après avoir été transformé en sucre dans l'eau des aquariums ; on pourrait supposer aussi que les substances amylacées employées ne sont que indirectement utiles, en servant au développement d'une flore bactérienne variée, dont se nourriraient les éponges. Il me paraît impossible de pouvoir décider si le *Suberites* tire son amidon des bactéries qui vraisemblablement servent à son alimentation, ou au contraire s'il l'élabore lui-même. Krukenberg semble incliner vers cette dernière explication.

J'ai fait deux ou trois essais pour rechercher le glycogène dans la même éponge, sans être plus heureux que ce dernier auteur. Les liquides provenant de l'ébullition de la pulpe de *Suberites* ont été déféqués au sous-acétate de plomb, et l'excès de ce métal précipité par du carbonate de soude. Après filtration et concentration au bain-marie, les liqueurs obtenues n'ont pas présenté de coloration par l'iode et n'ont pas réduit la liqueur de Fehling, après ébullition en présence d'acide sulfurique.

Produits de désassimilation.

L'étude de ces substances n'a pas été encore entreprise sérieusement. On sait que les éponges, comme tous les organismes vivants, absorbent de l'oxygène et dégagent de l'acide carbonique ; mais les procédés de désintégration des substances azotées qui s'opèrent à leur intérieur sont encore inconnus pour nous. Mac Munn (90) dit que « la manière dont elles rendent l'eau dans laquelle elles vivent impure et nuisible aux autres organismes, suppose l'élimination d'une substance azotée. »

Bidder (43) précise davantage et admet que les produits d'excrétion d'un certain nombre d'éponges sont des matières azotées solubles; celles-ci, dans certaines espèces, ne sont pas éliminées hors de l'animal, deviennent insolubles, et donnent ainsi naissance aux substances qui forment le groupe des spongines.

Krukenberg (155) a abordé cette question d'une façon plus sérieuse et examiné l'extrait aqueux de *Suberites domuncula*.

1° Celui-ci ne renferme pas d'indol, en employant comme réactif une écaille de pin préalablement trempée dans l'acide chlorhydrique concentré.

2° Il ne contient pas davantage d'indican, recherché au moyen de la réaction à l'hypochlorite de soude et à l'acide chlorhydrique pur.

3° L'absence de coloration au perchlorure de fer exclut la présence de l'acide acétique ou de ses dérivés organiques (acides acétylacétique, éthyldiacétique, etc.).

4° Le nitroprussiate de soude, avec addition de potasse ou d'ammoniaque, ne donne qu'une coloration pourpre à peine appréciable (créatinine, sulfures, acétone, aldéhyde, mercaptan, etc.). Krukenberg, au sujet d'une couleur pourpre intense obtenue avec l'aide du même réactif sur des extraits aqueux de divers animaux marins, émet l'opinion qu'elle est due à une substance inconnue, car elle lui a paru se singulariser par des propriétés spéciales. Dans le cas du *Suberites* il est possible, à mon avis, qu'on doive la rapporter à la présence d'une petite quantité de sulfures, ces animaux se rencontrant de préférence dans le voisinage des fonds vaseux.

5° Dans une publication antérieure (148) le même auteur nous annonce n'avoir pas trouvé d'acide urique chez quelques Eponges : *Myxilla fasciculata*, *Tethya Lyncureum*, *Euspongia adriatica*. J'ai fait cette recherche sur le dépôt qui s'était formé dans un suc de *Suberites* filtré. Après évaporation, la réaction de la murexide s'est montrée absolument négative.

Au total, cette question est très mal élucidée et demanderait de nouvelles recherches.

Matière colorante.

Ainsi qu'on l'a vu, les principaux noms populaires du *Suberites* sont ceux qui rappellent sa couleur : « orange, limon » suivant que l'éponge est rouge ou jaune, et ce sont là en effet les cas les plus fréquents. Entre ces teintes on trouve tous les termes de passage, établissant bien qu'il s'agit dans tous les cas de la même espèce et non pas d'espèces différentes. Il est très rare que le pigment soit également réparti sur toute la surface, sauf chez les individus jaunes : les autres portent éparses des taches plus foncées, parfois poussées vers le noir. Le pourtour immédiat de l'osculé est presque toujours plus clair, cette région étant entourée par une zone où semble se trouver au contraire la plus grande accumulation de pigment.

D'autres individus, plus rares, sont violets, violet rouge ou violet bleu ; lorsque cette dernière teinte tire encore davantage sur le bleu, elle doit constituer ce que Renier a appelé la couleur azurée. Elle est parfois assez peu marquée et se rapproche de ce qu'on appelle la couleur

livide. O. Schmidt (27) a trouvé à Zlarin des spécimens tachés de bleu sur fond blanc et rouge, et il en a fait une variété spéciale ; Lendenfeld (18) a même rangé ces individus dans un genre différent : tous les deux paraissent avoir tort, il s'agit bien du *Sub. domuncula*, mais à pigmentation anormale. Ce qui l'indique nettement, c'est que généralement les types de Schmidt avaient encore des marbrures rouges, ainsi que cela arrive d'ordinaire.

Les individus lilas ont le plus souvent le canal spiral de couleur orangé, ainsi que le pourtour de l'osculé ou des oscules ; ce pourtour peut cependant être d'un blanc pur. On trouve aussi généralement des taches ou des marbrures rouges éparses sur la surface.

Une couleur qui s'observe plus rarement encore est le brun : je veux parler d'un brun de nuance chaude que l'on peut assez bien comparer à celui des solutions de vésuvine. On semblerait avoir quelque raison alors de penser à une variété nouvelle, si l'on voulait attacher quelque importance aux caractères de cette nature, car on saisit moins bien dans ces cas les termes de passage, la couleur étant plus homogène. Les marbrures sont constituées par des bruns plus ou moins foncés, le canal spiral est brun lui aussi, mais d'une nuance plus claire, plus lavée de blanc.

Topsent (36) nous apprend que beaucoup d'individus sont entièrement blancs : il existe peut-être des races locales, dans certaines stations, possédant ce caractère. Sur les quelques centaines d'échantillons qui m'ont servi de sujet d'étude, je ne l'ai pas rencontré une seule fois.

Par contre, j'ai constaté chez certains *Suberites* bruns que le pourtour de l'oscule était blanc, cette même couleur se continuant dans l'intérieur de l'éponge, sous forme d'arborisations, le long des canaux exhalants les plus volumineux.

On peut poser comme règle que le canal spiral et les pourtours des oscules sont d'une teinte plus claire que le reste de la surface de l'animal.

Faisons maintenant chez un individu normal une section perpendiculaire à la surface, et intéressant à la fois l'ectosome et le canal spiral; elle nous apprendra ceci : le maximum de pigmentation siège dans la région la plus externe; la couleur rouge diminue graduellement, plus ou moins vite suivant les individus, et finit par disparaître totalement, en apparence, à mesure que l'on s'avance dans l'intérieur. Une nouvelle couche pigmentée de 1 à 3 millimètres d'épaisseur constitue la paroi du canal; celle-ci est parfaitement limitée, ne se diffusant pas vers l'intérieur, et elle est moins chargée en couleur que la couche externe. On rencontre fréquemment, formant la paroi des principaux canaux exhalants, une zone pigmentée identique à celle du canal spiral. Une répartition semblable se remarque, pour leur couleur particulière, chez les individus colorés en brun.

Pour ceux qui sont violets, on pourrait encore poser la même règle en ce qui concerne le pigment rouge, que nous savons ne manquer chez eux que très exceptionnellement. Il suffit de faire abstraction de la couche la plus externe; c'est dans celle-ci, de 2 à 3 millimètres d'épaisseur, qu'est limitée la coloration violette, si bien que les

plaques rouges déjà signalées apparaissent à la section comme des affleurements du tissu vrai de l'éponge, paraissant sortir à travers une enveloppe violette surajoutée, mais qui serait perforée par places.

Le tissu propre du Spongiaire, examiné assez loin de la surface, présente une coloration brune qui n'a rien de remarquable. Il faut signaler encore que les gemmules, dont la coquille support est encroûtée, ont une couleur rouille qui m'a paru ne jamais leur manquer.

Renier admettait que ces différences de coloration seraient dues à des degrés divers d'oxydation qu'aurait présenté le fer contenu dans l'éponge; Celesia, ayant constaté que le pigment rouge siège dans des cellules qu'il croyait de nature végétale, a admis qu'il s'agissait de la chlorophylle.

Krukenberg (148) avait déjà étudié ce pigment avec soin et reconnu un certain nombre de ses propriétés. C'est une substance à peu près insoluble dans l'eau, froide ou chaude, soluble dans l'alcool, la glycérine, mieux encore dans l'essence de térébenthine, la benzine, le chloroforme, l'éther sulfurique, l'éther de pétrole. Ces dissolvants prennent une couleur orangé, tandis que le sulfure de carbone devient d'un rouge vineux. Les alcalis et les acides dilués ne la dissolvent pas, et ne l'altèrent pas sensiblement, même par une ébullition prolongée (1). Chauffée avec précaution, cette matière fond sans se décomposer ; on n'a pas pu l'obtenir à l'état cristallisé. Ses cendres ne renferment ni

1. Sous l'influence des acides concentrés cette substance fournit une réaction colorée dont il sera question plus loin, et qui paraît avoir échappé à Krukenberg.

fer, ni cuivre, ni manganèse. L'ensemble de ces réactions a permis à l'auteur allemand de la rapprocher de la tétroneérythrine.

Une de ses caractéristiques consiste dans sa fragilité à l'égard de la lumière et des agents oxydants. En solution dans l'essence de térébenthine, elle est très rapidement altérée, sans doute à cause de l'ozoné contenu dans l'essence; celle-ci prend en même temps un aspect opalescent dû à l'apparition d'un précipité blanc, mais garde toujours une teinte jaune, même après plusieurs mois. L'acide nitrique à froid ne semble pas l'attaquer sensiblement, mais la dissout à chaud. Un papier blanc, coloré par de l'extrait éthéré de Suberites, subit à la lumière solaire une décoloration très rapide, pouvant demander quelques minutes seulement pour se produire, par l'emploi de lentilles convergentes. Il y a simultanément formation d'une matière blanche, que l'auteur allemand a trouvé être analogue à la cholestérine, ou plutôt à l'isocholestérine de Schulze, et qu'il regarde comme un produit de l'altération du pigment.

Celui-ci se conserverait beaucoup plus longtemps en le maintenant en solution éthérée, dans des vases fermés. Krukenberg a pu laisser ainsi pendant six semaines une solution concentrée, dans un flacon poli plan, recevant la lumière solaire directe, sans que la coloration se fût sensiblement atténuée. J'ai répété l'expérience dans un tube à essai, pendant le mois de janvier, mais avec une solution de couleur faible; au bout d'un mois, l'intensité de la coloration avait diminué des quatre cinquièmes. Le chimiste allemand tire de ses observations une conclusion

bien inattendue : pour lui les animaux les plus colorés seraient ceux qui auraient reçu le moins de radiations lumineuses, chez les autres le pigment aurait été détruit par la lumière. Autant dire que les plantes les plus vertes sont celles qui ont poussé à l'obscurité, parce que les rayons solaires altèrent les solutions de chlorophylle. Tout au contraire, Nardo croit que chez les Chondrosiées la pigmentation est surtout accentuée du côté éclairé, et Marion (21) a constaté que les Crustacés de nos fonds marins ont des teintes d'autant plus faibles qu'ils habitent des eaux plus profondes.

Dans certaines conditions indéterminées, pendant l'évaporation de certains extraits étherés, par exemple, la coloration orangé du résidu fait graduellement place à une couleur verte. Le spectre de cette substance, examiné par Krukenberg, diffère de celui de la chlorophylle et se rapproche du spectre que possède l'extrait rouge de *Suberites*. Cet auteur y voit un pigment nouveau ; je ne partage pas son opinion et je crois qu'il s'agit là d'un produit d'altération de la tétronérythrine. Ce n'est pas un fait nouveau dans l'histoire des pigments que de constater de pareils changements de couleur ; on sait d'ailleurs que la cholestérine, dont nous connaissons la formation par l'action de la lumière sur la tétronérythrine, est colorée en vert par l'acide sulfurique concentré lorsqu'on ajoute cet acide à sa solution chloroformique. Ce qui permet également d'accepter assez facilement cette hypothèse pour l'origine de la matière colorante verte, c'est son instabilité à elle aussi. La lumière, ou l'oxygène, la détruisent plus lentement que la tétronérythrine, mais là

détruisent tout de même ; elle ne constitue, à mon avis, qu'un terme de passage, inconstant, dans les transformations du pigment rouge.

J'admets une origine identique pour la couleur violette de certains Suberites. Elle est, ainsi qu'on le verra plus loin, due à l'association d'un pigment bleu au lipochrome orangé normal. J'ai fait déjà remarquer que la couleur violette de l'éponge est parfaitement localisée sous forme d'une couche mince à la périphérie de l'animal. Or *Celesia* a vu des éponges rouges devenir violettes à l'air ; de plus la tétronérythrine possède parmi ses réactions des colorations bleues analogues à celle que j'ai observée au microscope dans les cellules de certains Suberites.

L'extrait éthéré de cette éponge se colore en bleu par l'action de l'acide sulfurique et de l'acide azotique concentrés ; la teinte passe ensuite au verdâtre. L'eau iodée détermine aussi un bleuissement des plus marqués. Je me suis aperçu de cette réaction en cherchant à déterminer sur des coupes macroscopiques quelle est dans l'animal la répartition de l'amidon ; la coloration bleue, après action de l'eau iodée, est identiquement située aux mêmes endroits que la coloration orangé, et avec une intensité égale. De là à déduire que la matière colorante pourrait jouer un rôle dans la fabrication de l'amidon par le Spongiaire, il n'y avait qu'un pas, vite franchi. Mais j'ai constaté ensuite que ce prétendu iodure d'amidon se décolorait rapidement à la lumière et sous l'action des solutions diluées de carbonate de soude ; il ne se formait plus lorsque les fragments d'animal, avant d'être immergés dans l'eau iodée, étaient lavés à l'éther et ainsi débarrassés de leur matière

colorante. L'éther qui a servi à cet usage ne fournit pas la réaction, lui non plus ; mais elle devient positive si on fait agir l'iode sur le résidu provenant de l'évaporation de l'extrait éthéré. C'est évidemment la matière colorante rouge qui bleuit sous l'influence de l'eau iodée ; il paraît donc parfaitement logique d'admettre que le lipochrome bleu dérive, par transformation, de la tétronérythrène du *Suberites*.

Celesia s'est occupé de l'origine de cette dernière matière colorante. Il a remarqué sur des coupes minées que le pigment rouge, qu'il appelle chlorophylle, est renfermé dans « des cellules rondes, de grandeurs variées, irrégulièrement distribuées entre les spicules présentant des contours bien marqués : une membrane distincte, un noyau sphérique renfermant un nucléole, ça et là des granules réfringents. » Il compare ces cellules aux Zooxanthelles que Brandt (43) a décrites chez un certain nombre d'animaux inférieurs, et tend à y voir des Algues monocellulaires vivant avec le Spongiaire dans une sorte de symbiose. En examinant les coupes à un faible grossissement, il est très facile de constater que la nappe rougeâtre diffusée de l'extérieur vers l'intérieur de l'éponge, et qui constitue la zone pigmentée, n'est pas homogène du tout, mais constituée au contraire par des flaques colorées séparées par des veines incolores. Ces amas pigmentés seraient constitués par des colonies d'Algues.

Une pareille hypothèse paraît très séduisante à première vue, et mérite d'être étudiée avec un certain soin. Tout d'abord, la nature du pigment permet-elle de la soutenir ? La matière colorante des algues rouges est la

phycoérythrine, dont les propriétés ont été étudiées par plusieurs observateurs. J'emprunterai les renseignements qui suivent à Franz Schütt (173): c'est une substance à fluorescence jaune orangé, soluble dans l'eau et insoluble dans les dissolvants organiques. Elle possède cinq bandes d'absorption : une entre les raies B et C du spectre, une entre C et D, deux entre D et E, et la dernière près de F. On connaît déjà les dissolvants du pigment du *Suberites* déterminés par Krukenberg; cet auteur a étudié aussi le spectre d'absorption des extraits étherés du même *Spongiaire*.

Il a reconnu que la partie rouge du spectre est entièrement éteinte, la bande d'absorption dépassant même la raie C; une autre bande, plus faible, est située entre C et D; entre D et E commence une zone obscure qui couvre toute la partie violette. Comme on le voit, il est impossible de trouver deux substances plus dissemblables que ne le sont ces deux pigments. Néanmoins, pour élucider définitivement cette question, je me suis livré à l'examen des cellules pigmentées et à des essais de culture sur un milieu nutritif.

Dissociations dans de l'eau de mer des fragments de la zone externe du *Suberites*, empruntés à des individus vivants et examinés immédiatement, ou après fixation par un séjour de 24 heures dans une solution de formol à 10 0/0. Nous pouvons voir que le pigment est principalement réparti dans des cellules rondes, que ni leurs dimensions ni leurs autres caractères ne permettent de distinguer des autres cellules mésodermiques de l'animal. Le noyau est apparent, ainsi que le nucléole générale-

ment unique, mais il n'y a pas de membrane d'enveloppe appréciable.

A côté de ces cellules rondes on en trouve d'autres, pigmentées aussi et de forme irrégulière ; les unes possèdent des prolongements amiboïdes en extension ; un certain nombre ont un aspect vaguement étoilé, dû à des prolongements protophasmiques irréguliers, terminés par une pointe fine. Assez fréquemment ces prolongements paraissent s'anastomoser avec ceux qu'envoient les cellules voisines. Dans toutes cellules la matière colorante se trouve à l'état de granulations, irrégulières comme forme et comme dimensions, en nombre variable, de 5 à 15 d'ordinaire. Ces granulations sont généralement situées dans la partie la plus externe de la cellule ; elles font parfois saillie sur les bords de façon à la faire paraître crénelée ; de même elles donnent fréquemment un aspect moniliforme aux prolongements protophasmiques effilés qui terminent les branches des cellules étoilées.

En faisant subir la même opération à des Suberites violets, on constate la présence d'un lipochrome de couleur bleuâtre, renfermé dans les mêmes cellules que le pigment rouge. Il s'agit encore des sphérules, de granulations arrondies, parfois légèrement mamelonnées, qui conservent leur forme dans l'eau de mer lorsque les hasards de la dissociation ont fragmenté les cellules qui les renfermaient. Il est possible de rencontrer dans les mêmes éléments anatomiques des granulations des deux couleurs, rouges et bleues, à côté les unes des autres. On conçoit que si le lipochrome rouge, normalement associé au pigment bleu, vient à diminuer d'importance, l'éponge prendra une

coloration bleue plus franche (types azurés de Renier).

Quelle est la nature de ce pigment? Rapprochant de l'observation de Renier, qui a trouvé de l'iode dans le Suberites, celle de Carter, qui a constaté la présence de l'amidon dans la même éponge, Celesia attribue la coloration bleue à de l'iodure d'amidon formé après la mort des éléments cellulaires. Il ne paraît pas avoir cherché à vérifier son hypothèse à l'aide du microscope. Nous avons vu que le pigment rouge du Suberites peut donner naissance, dans certaines conditions, à une couleur bleue identique à celle qui vient d'être signalée; la localisation de cette dernière pigmentation à la surface extrême de l'animal, son absence constante dans le canal spiral, sa présence chez des Eponges parfaitement vivantes, ne permettent pas d'y voir à priori, avec Celesia, un produit de dégérescence résultat de la mort de certaines cellules.

Les coupes, pratiquées sur des individus fixés à l'acide osmique, ne nous apprennent rien de plus que les dissociations. Il m'a été donné de rencontrer dans une d'elles trois éléments, éloignés l'un de l'autre et correspondant parfaitement à la description de Celesia; membrane d'enveloppe très nette, noyau nucléolé. Ils étaient de forme ovoïde très régulière et présentaient un aspect qui permettait de les comparer aux cellules végétales; leur dimension était environ en longueur de deux à trois fois le diamètre des cellules mésodermiques de l'animal. Ils paraissaient ne pas renfermer de pigment; je n'oserais pas affirmer cependant qu'il s'agissait réellement de cellules végétales.

On comprend aisément que les cultures artificielles

n'aient pas donné de meilleurs résultats que l'examen direct ; voici le procédé qui a été suivi. Des fragments de suberites rouges ou violets, récemment pêchés, ont été détachés de l'animal à une profondeur de deux à trois millimètres, à l'aide d'un scalpel flambé, puis dissociés dans de l'eau de mer stérilisée. Ces dissociations ont servi à ensemençer le milieu nutritif suivant, liquéfié à une douce chaleur, et réparti dans des boîtes de Rietsch et Nicati :

Eau de mer.	100
Gélatine.	10
Glucose	5

(Neutraliser 9/10 du mélange avec de la soude, ajouter le dernier dixième, chauffer un quart d'heure à 105°, filtrer, mettre en tubes et stériliser (1).

Une baguette de verre, flambée, était plongée dans la dissociation, puis proménée dans une boîte de Rietsch et, sans être rechargée, servait ensuite à ensemençer une deuxième boîte. Assez rapidement un certain nombre des premiers ensemençements ont dû être jetés, envahis par une flore des plus variées ; quelques-uns des deuxièmes ont subi le même sort. Après deux mois, une moitié de ceux-ci étaient restés à peu près stériles ; d'autres renfermaient des colonies bactériennes, dont quelques-unes colorées

1. Une légère acidité avait été laissée à ce milieu de culture afin de gêner le développement d'un certain nombre de bactéries. Il est impossible, en effet, de se garer des microorganismes que renferme certainement l'eau de mer circulant dans les éponges.

en jaune, ou en orangé, une en rouge. Malgré des examens répétés, il m'a été impossible de découvrir des cellules analogues aux Zooxanthelles de Brandt.

La présence dans ces encemencements de colonies colorées n'a rien d'étonnant ; nous connaissons déjà un certain nombre de bactéries chromogènes, à habitat aquatique ; celles qui avaient poussé dans mes godets étaient de formes variables : bacilles épais ou minces, longs ou courts, certains ressemblant à des cocci. La colonie rouge dont il a été parlé plus haut, dissociée dans le même milieu nutritif, a donné naissance à un semis de colonies d'un beau jaune citron. Toutes les colonies colorées ont été entemencées sans succès dans de l'eau de mer glucosée à 5 0/0 et stérilisée. Les colonies jaune citron déjà signalées ont été sous microscope, traitées par l'acide sulfurique et l'acide azotique concentrés, et par l'eau iodée faible. Elles se sont très lentement dissociées dans les acides, mais sans le moindre changement de coloration. Le résultat a été le même en les mouillant préalablement avec de l'éther ; l'eau iodée n'a fourni aucune réaction. J'ai préparé aussi quelques gouttes d'un extrait éthéré (2) de ces colonies, et les réactifs précédents ont été essayés sur lui sans plus de succès.

Ces précautions étaient à prendre, car il fallait envisager l'hypothèse où le pigment du *Suberites* lui serait fourni par des bactéries vivant en commensalisme avec lui. On sait qu'un certain nombre de bactéries chromogènes sécrètent des lipochromes rappelant ceux des animaux (liporhodines et lipoxanthines). Les quelques pigments de ce genre qui ont été examinés à ce point de vue présen-

tent un spectre différent de celui que Krukemberg a trouvé à l'extrait de *Sub-domuncula*. La plupart prennent sous l'influence de l'acide sulfurique ou de l'acide azotique concentrés, une coloration qui varie du bleu au vert pâle (réaction de la lypocyanine). Le pigment de la bactérie que j'ai examinée ne fournissait pas ces réactions. L'examen au microscope de fragments de *Suberites*, colorés au violet de gentiane et lavés à l'eau, puis dissociés, ne permet guère non plus d'admettre que la pigmentation de l'éponge est d'origine bactérienne.

On pourrait proposer, il est vrai, que la tétronérythrine est un produit microbien dont le *Spongiaire* serait imprégné d'une façon différente; on pourrait y voir un résidu alimentaire. Les pores inhalants des éponges étant trop étroits pour laisser pénétrer dans les canaux de celle-ci des fragments un peu volumineux, ces animaux ne doivent guère pouvoir se nourrir que de substances dissoutes dans l'eau ou de bactéries. Il est probable que ces divers organismes jouent un rôle important dans l'alimentation des *Spongiaires*, et il n'y aurait rien d'étonnant à ce que, à la suite de l'ingestion continue de bactéries chromogènes, les tissus du *Suberites* se laissent graduellement imprégner par les lipochromes de ces bactéries. Faute d'expériences précises, il est difficile d'émettre sur ces questions des affirmations trop hasardées; mais j'accepterais plus volontiers l'idée que la tétronérythrine est directement produite par les cellules du *Spongiaire*, aussi capables de la sécréter que les cellules des oiseaux ou celles des crustacés.

Il est à remarquer que le pigment du *Pagure*, obtenu

en faisant macérer dans de l'éther des animaux pilés, ressemble beaucoup à celui du Spongiaire ; si la couleur des deux espèces animales ne semble pas la même quand on compare les individus vivants, il en est tout autrement quand on considère les teintures éthérées. Je ne suis assuré que le pigment du Pagure a les mêmes dissolvants que celui du Suberites, possède la même sensibilité à l'égard de la lumière, et donne les mêmes réactions que lui avec l'acide sulfurique, l'acide azotique et l'eau iodée. Pour Celesia cette homochromie entre les deux commensaux se retrouverait même dans les nuances, et serait réglée par le crustacé « *capace di un apprezzamento* ». La découverte, que l'on fait accidentellement, du Suberites à coloration normale, développés sur des Murex vivants, permet de rejeter cette opinion que la couleur du Bernard-l'Hermite pourrait se diffuser dans la masse du Spongiaire qui l'abrite.

Reste à déterminer l'utilité pour l'animal du lipochrome étudié. Au sujet d'un certain nombre de pigments de ce genre on a émis l'hypothèse qu'ils joueraient un rôle dans l'absorption de l'oxygène. Krukenberg admet que la tétronérythrine, en se détruisant sous l'influence de l'ozone, donnerait naissance à des « produits aussi utiles pour les éponges, que le sont pour les végétaux les graisses et les hydrates de carbone. » Il est vraisemblable que la répartition du pigment dans le Suberites obéit à des raisons physiologiques. Nous le trouvons surtout dans les régions les plus éclairées (surface de l'animal) et dans des régions obscures (canal spiral) ; au voisinage du maximum d'oxygène (surface canal spiral),

parfois au niveau du minimum d'oxygène (canaux exhalants). Aussi, en l'absence d'expériences, et pour ne pas m'engager sur le terrain glissant des hypothèses, je préfère me tenir sur la réserve au sujet de cette question. Cependant, tout en étant disposé à croire avec Krukenberg que le pigment joue un rôle dans l'assimilation de l'animal, je n'admettrais pas volontiers avec lui qu'il est utile seulement par les produits qui résultent de sa décomposition. L'illustre auteur allemand me paraît avoir parlé plutôt en chimiste qu'en physiologiste et, en renouvelant une comparaison déjà employée avoir oublié que si la chlorophylle est utile à la plante, ce n'est pas par les substances que nous donne sa destruction *in vitro*.

Huile essentielle

Les premiers travaux sur ce point appartiennent encore à Krukenberg (148). Cet habile chimiste avait d'abord cherché si le parfum désagréable dégagé par un certain nombre d'éponges ne serait pas dû à de l'ozone, car il y trouvait quelque analogie avec l'odeur du phosphore, ou avec celle que l'on perçoit au voisinage des machines électriques en activité. Ses recherches ont porté sur plusieurs espèces, parmi lesquelles se trouve le *Subdomuncula* : des bandes de papier imprégnées d'iodure de potassium et amidonnées étaient suspendues sous une cloche de verre ; sous celle-ci se trouvaient également des éponges récemment pêchées et recouvertes d'une mince couche d'eau. Il n'y eut aucun bleuissement du réactif, et le résultat fut le même en mettant le papier

directement en contact avec l'animal. Dans les mêmes conditions la résine de gaïac ne subit aucune modification. L'ozone n'est donc pour rien dans le parfum spécial de ces éponges.

En faisant évaporer sur des bandes de papier l'extrait éthéro-alcoolique d'un certain nombre de Spongiaires, Krukenberg put remarquer que la transparence prise d'abord par le papier, et ressemblant à celle des taches de graisse, disparaissait graduellement à l'air et plus rapidement encore au bain-marie. Il remarqua en outre que les Subéritides à odeur phosphorée (*S. domuncula* entre autres) laissaient, par évaporation de leurs extraits éthéro-alcooliques, une masse molle ayant l'arome de l'ananas ou des racines de violette ; il conclut à l'existence d'une huile essentielle. Celle-ci, au contact de l'air, dégagerait de l'ozone qui, en oxydant la tétronérythrine, jouerait un grand rôle dans les phénomènes de nutrition qui se passent dans l'animal. Ainsi qu'on le voit, l'auteur allemand ne renonce pas à l'idée de l'émission d'ozone, et n'attribue qu'à la malechance l'insuccès de ses recherches dans ce sens.

J'ai voulu essayer d'isoler par la distillation le principe odorant du *Sub. domuncula*. A cet effet 750 gr. environ d'éponges vivantes ont été incisées, additionnées de 200 cc d'eau distillée, puis chauffées au bain de sable dans un ballon muni d'un réfrigérant de Liebig. Les 100 premiers centimètres cubes recueillis étaient légèrement opalescents, neutres au tournesol, et présentaient au plus haut point l'odeur désagréable de l'animal vivant, très comparable à ce que les pêcheurs appellent « l'odeur du

gangui ». Le résidu du ballon, additionné de 5 cc. de lessive de potasse, fut chauffé à nouveau et une centaine de centimètres cubes furent ainsi recueillis. Ce distillat était encore très légèrement opalescent; il avait une réaction franchement alcaline, mais son parfum se rapprochait bien moins que celui du précédent de l'odeur de marée altérée; il rappelait beaucoup au contraire celui des crustacés bouillis.

Les deux liquides ainsi obtenus furent mélangés puis distillés successivement en présence d'un très léger excès de potasse ou d'acide sulfurique, en ne conservant chaque fois que les deux premiers tiers du résultat de l'opération: après le chauffage avec la potasse le liquide recueilli était parfaitement limpide et avait gardé son « odeur de gangui ». La distillation sur l'acide sulfurique avait modifié le parfum qui était très nettement devenu celui de crustacé cuit.

Il est probable que cette dernière odeur a été développée par le chauffage, ainsi que cela se produit dans les marmites des cuisinières; on remarque aussi qu'elle n'est perceptible que lorsque les principes les plus odorants ont été éliminés. Il faut l'attribuer très vraisemblablement à la présence de produits de sécrétion dûs au Pagure et dont le corps du Suberites serait imprégné, au moins au voisinage du canal spiral. Il resterait à s'assurer si ce sont des substances sans aucune utilité pour le Spongiaire, et par lesquelles il se serait laissé envahir, par un phénomène purement passif, ou au contraire si ce sont des produits qu'il absorbe avec élection et dont il fait volontiers son profit. Cette dernière hypothèse, si on pouvait

jamais en démontrer la justesse, jetterait un jour heureux sur la symbiose qui réunit les deux associés ; elle expliquerait comment il se fait que les Suberites, qui ont pu se fixer sur des coquilles habitées par des Pagures, sont les seuls à pouvoir acquérir leur développement normal, et pour quelle raison l'accroissement se fait de préférence au niveau du Pagure, déterminant ainsi la formation du canal spiral.

Quant aux produits à odeur désagréable qui passent les premiers à la distillation, il serait hasardeux de les rapporter à une huile essentielle ; on peut faire remarquer seulement que leur solution n'a pas paru alcaline à un papier de tournesol, assez sensible cependant, et qu'ils sont arrêtés, ou modifiés, par une distillation ultérieure en présence d'acide sulfurique. Leur bouquet, qui offre quelque analogie avec celui de la marée altérée, permettrait peut-être de croire qu'il s'agit là d'un mélange de substances à odeurs différentes, parmi lesquelles pourraient se trouver des amines en petite quantité. Ces corps pourraient être sécrétés par l'animal, ou bien il se serait laissé imprégner par eux dans les fonds qu'il habite.

Dans tous les cas, je n'ai pas pu rencontrer le parfum d'ananas ou de violette que Krukenberg avait retiré des Suberites de l'Adriatique. Mais, en faisant évaporer à l'air libre l'extrait éthéré de la même éponge, j'ai constaté que le résidu, de couleur foncée, restant au fond de la capsule, avait très nettement une odeur de courge cuite. Cette odeur s'éloigne trop de celle que dégage l'animal vivant et apparaît dans des conditions trop spéciales pour

que l'on ne puisse pas l'attribuer à quelque altération de l'extrait. Aussi je crois pouvoir conclure sans hésitation que les *Suberites domuncula* examinés par moi ne renfermaient pas d'huile essentielle.

DIASTASES

Pour étudier les actions diastasiques du *Sub. domuncula* je me suis servi du suc obtenu par expression. Les éponges, dans le plus grand état de fraîcheur possible, étaient divisées au scalpel en menus fragments, ce qui permettait d'enlever les Amphipodes situés dans leur intérieur (généralement dans les canaux exhalants de grand diamètre); les individus dont la surface était trop criblée par les logettes de ces mêmes crustacés étaient simplement rejetés. Après pulpation dans une machine à hacher la viande, la pâte était soumise à la presse, et le liquide qui s'écoulait conservé en présence d'un excès de chloroforme.

On obtient de la sorte une purée rougeâtre, à odeur désagréable, laissant déposer lentement un dépôt glaireux jaune. Pendant une grande partie de mes expériences, j'ai tenu à opérer sur des sucs parfaitement limpides; mais la filtration est extrêmement pénible: les filtres en papier s'obstruent avec la plus grande rapidité, la toile fine elle-même est immédiatement recouverte d'une volumineuse boue gluante qui l'imperméabilise complètement.

N'ayant pas osé employer la filtration sur biscuit, de

crainte de voir arrêter dans cette opération une partie des diastases, j'ai fait traverser à mes liquides une double épaisseur de papier à filtrer, en m'aidant de l'aspiration à la trompe. Le suc était maintenu saturé de chloroforme, le récipient en renfermait également ; mais la perte de matière était énorme : un quart au plus était utilisé, à cause de l'extrême lenteur de l'opération. Il était difficile de conserver le liquide constamment saturé de chloroforme, et des invasions bactériennes étaient à craindre. De plus il se fait pendant ce temps une aération énergique, dont le résultat est de brunir fortement le suc et d'en affaiblir les diastases. C'est cette dernière considération qui m'a fait abandonner ce procédé, car il m'a semblé que les préparations ainsi obtenues perdaient de leur énergie beaucoup plus vite que les autres.

Dans les débuts de mes expériences, j'avais essayé de suspendre dans de l'éther des fragments de Suberites et de recueillir le liquide qui se ramasse au fond des vases. Je ne sais si l'on a ainsi des produits plus actifs, en tous cas la filtration n'est pas plus aisée. De même l'addition de 15 0/0 d'alcool à 92°, à l'aide de laquelle j'avais tenté de rendre le mélange plus fluide, n'a pas répondu au but proposé. La préparation de l'extrait glycérimé est au contraire plus avantageuse : une grande partie des substances glaireuses que j'ai signalées manquent dans ce cas, soit que la glycérine les contracte et les rende insolubles, soit au contraire qu'elles restent en solution. Mais il y a d'autres inconvénients : la substance colorante des éponges est assez aisément soluble dans la glycérine, ce qui gêne beaucoup dans certaines réactions ; de plus,

dans mes expériences de liquéfaction de la gélatine, l'attaque a été plus difficile à apprécier pour les extraits ainsi préparés.

Dans beaucoup de cas les expériences d'autodigestion, faites par divers auteurs, se sont montrées très utiles pour l'obtention de liqueurs diastasifères d'un emploi commode ; le résultat a été ici absolument nul. Soit en liqueur acidulée par l'acide phosphorique, soit en présence de carbonate de soude, il n'a pas paru y avoir de changements dans la consistance et dans la composition du liquide. Nous avons vu d'ailleurs que, même après plusieurs semaines, il n'y avait pas de peptones formées dans le suc de Suberites.

Aussi, en définitive, le procédé auquel j'ai fini par me rallier est celui-ci : après expression de la pulpe d'éponge, repos assez long en présence de chloroforme, puis décantations répétées ; parfois, pour hâter la besogne, filtration sommaire à travers du papier filtre simple, souvent renouvelé.

Ainsi obtenu, le suc était amené à neutralité au tournesol, le plus exactement possible. Une partie, mise à part, était soumise à l'ébullition pendant une heure ; le distillat recueilli pendant cette opération était versé dans la liqueur, dont le volume était ramené au volume initial. Après refroidissement, ce liquide étaitensemencé avec le suc type, afin d'annuler toute cause d'erreur possible due aux microorganismes, puis maintenu lui aussi en présence de chloroforme en excès. C'est de la préparation ainsi obtenue qu'il sera question dans le cours de ce travail toutes les fois qu'il sera parlé de suc bouilli.

Une autre partie de suc normal était répartie dans plusieurs matras et chauffée pendant une heure aux températures suivantes : 37°, 50°, 60°, 70° et 80°. L'ensemencement, après retour à la température ordinaire, était également fait comme ci-dessus, et le chloroforme servait encore d'agent conservateur.

Pour rendre les essais comparables, toutes les fois qu'il a été mis en expérience des sucS chauffés ou bouillis en même temps que du suc non chauffé, ces liquides provenaient d'un même lot d'animaux.

Oxydase.

Lorsqu'on débite un *Suberites* en tranches, il se produit un brunissement lent et graduel de la surface de section ; en portant les fragments à l'étuve à 100°, aussitôt la section faite, on peut constater après complète dessiccation que leur surface est notablement foncée, alors que l'intérieur est jaune clair. Le même phénomène est encore bien plus visible quand on considère le suc obtenu par expression : il garde sa couleur primitive aussi longtemps qu'on le maintient dans un flacon bien bouché ; vient-on, au contraire, à le mettre en contact avec l'air extérieur, l'oxydation commence à la surface et se propage lentement dans le sein du liquide. La teinte brune ainsi obtenue est très gênante pour les réactions colorées que l'on peut avoir à faire, et les rend même à peu près impossibles pour certains sucS fortement oxydés, comme le sont ceux qui ont subi la filtration à la trompe. La lumière ne joue aucun rôle dans sa formation, qui ne

paraît aucunement arrêtée par le maintien des flacons à l'obscurité.

En ajoutant de l'alcool à du suc récent de *Suberites* (le titre du mélange a atteint 77° environ), il s'est formé un précipité jaunâtre qui en séchant sur le filtre est devenu noir, a pris une consistance cornée et perdu à peu près toute solubilité dans la glycérine. De même, en cherchant à préparer par la précipitation du phosphate de chaux les diastases du *Spongiaire* étudié, on obtient un précipité fortement teinté de gris. Ce phénomène n'a rien qui doive nous surprendre si nous nous souvenons des observations maintes fois citées sur des sujets analogues. C'est ainsi qu'Harnack (143), dans la préparation de l'iodospongine de l'éponge ordinaire, fait déjà remarquer que cet albuminoïde brunit fortement pendant la dessiccation, même à l'abri de l'air, et devient semblable à un « pigment mélanique » (1). Le sang des Insectes, épanché au dehors, brunit en s'oxydant (Frédéricq, Krukenberg, Cuénot, etc.) ; la fibrine de *Maia Squinado* et de *Porc*, les albumines d'*Artemis exoleta* (Portier, 163), subissent le même phénomène. La plupart de ces faits ont été expliqués, un peu hâtivement parfois, en admettant l'action des oxydases.

En ce qui concerne les modifications de couleur que nous offre à considérer le *Suberites*, remarquons d'abord

1. En cherchant à préparer la spongine du *Suberites* par le procédé qu'a employé cet auteur, j'ai obtenu une substance, paraissant appartenir au groupe des nucléines et renfermant 0 gr. 01 0/0 d'iode. Ce produit, qui demande à être étudié de plus près, était jaune clair, presque incolore sur les bords, et nettement gris vers la pointe du filtre où il avait été mis à sécher.

que la teinte prise par les albumines coagulées à l'alcool n'est pas la même que celle du suc laissé au contact de l'air. Le précipité devient d'une teinte plus brune et plus foncée ; le liquide, au contraire, reste dans des tons plus chauds et plus pourpres. Il n'est donc pas certain que ce soit la même substance qui se modifie dans les deux cas ; il est très possible qu'il y ait plusieurs corps subissant simultanément des altérations analogues ou différentes.

Examinons aussi le suc bouilli et privé par conséquent de ses albumines coagulables, et de ses oxydases s'il y a lieu. Au contact de l'air il subit le même changement de couleur que le suc normal, quoique avec bien moins de rapidité. Dans ce cas assurément nous ne devons pas faire intervenir une action diastasique. Au total on peut attribuer le phénomène du brunissement du suc de *Suberites* à l'oxydation de principes, non coagulables par la chaleur, qu'il renferme à l'état de dissolution ; peut-être faudrait-il y joindre la transformation de quelques albuminoïdes. Il n'est pas sûr que ces dernières substances puissent subir une pareille altération dans le sein du liquide : nous ne la constatons que sur le coagulum déterminé par l'addition d'alcool.

Reste à voir si l'on ne peut attribuer à une oxydase la plus grande rapidité du noircissement, observée dans les sucs non chauffés. On serait d'autant moins étonné de retrouver ici un ferment de ce genre que Loisel (88) a constaté la présence d'une oxydase dans le suc de *Spongille* ; malheureusement ses expériences se prêteraient à quelques critiques.

La réaction à la teinture de gaïac s'est constamment

montrée négative pour le *Sub. domuncula* ; elle a été faite à plusieurs reprises, sur des animaux vivants ou achetés sur les quais, avec de la teinture alcoolique ou chloroformique récentes de gaïac : le résultat a été toujours nul. Le suc obtenu par expression est également inactif. Même après une heure de contact, les solutions de gaïacol ne sont pas colorées en rouge dans les mêmes conditions (le suc de Spongille n'a pas oxydé non plus le gaïacol, entre les mains de Loisel). La pulpe de *Suberites*, aussi bien que le suc récent et neutralisé au tournesol, s'est montrée sans action sur la résorcine, a coloré très lentement et très difficilement l'hydroquinone, et bruni assez rapidement le pyrogallol et la pyrocatéchine. Mais dans le suc bouilli ces deux derniers phénols ont subi également une oxydation, très faible et très lente à la vérité. L'action, dans ce dernier cas, pourrait être rapportée aux substances diverses, aux sels notamment, dont l'état physique ou l'équilibre moléculaire n'ont pas été détruits par l'ébullition. On connaît le rôle joué par les alcalis et certains de leurs sels, mieux encore par les sels de manganèse (G. Bertrand) comme substances adjuvantes dans l'oxydation des polyphénols. Et nous ne devons pas oublier que les sels de manganèse entrent en petite quantité dans la constitution du *Sub. domuncula*.

Voici comment on peut résumer la question des oxydases, en ce qui concerne cet animal : les tissus frais et le suc ont une action nulle sur le gaïac et le gaïacol, faible sur l'hydroquinone, marquée sur le pyrogallol et la pyrocatéchine. Comme on le voit, si on pouvait se décider à attribuer ces effets à une oxydase, il faudrait ranger

celle-ci dans une catégorie spéciale, dans un groupe aussi éloigné de celui des laccases que ces dernières sont elles-mêmes éloignées de la tyrosinase.

A moins d'admettre, nouvelle hypothèse, que nous nous trouvions en présence de deux ferments surajoutés et d'effets contraires : un ferment oxydant et un autre réducteur, dont le siège serait différent dans l'animal vivant, tandis qu'ils se trouveraient réunis dans le liquide provenant de la destruction des tissus. Cette hypothèse va être bientôt examinée.

Mais je veux rappeler auparavant que Krukenberg expliquait les phénomènes de respiration, qui se produisent à l'intérieur des tissus du *Suberites*, par l'action simultanée de substances capables d'ozoniser l'oxygène (huile essentielle) et de corps réducteurs (tétronérythrine), susceptibles de fournir par leur oxydation des matières nécessaires à l'animal. Griffiths (141, p. 209) admet comme possible que l'oxygène soit retenu dans la substance des éponges par « certains pigments respiratoires, probablement une histohématine ».

Un dernier mot sur cette question : Portier (163) ayant trouvé des oxydases chez tous les Crustacés qu'il a mis en expérience, le peu de netteté des résultats que j'ai obtenus a été pour moi une nouvelle preuve que j'avais pu éliminer suffisamment dans cette étude les causes d'erreur dues aux commensaux du Spongiaire.

Ferment réducteur.

Ces ferments sont très mal connus, et il est possible que l'on ait à ranger sous cette étiquette des diastases

d'ordres différents : les unes hydrogénantes, telles que le philolithion de Rey-Pailhade, les autres désoxydantes, ayant pour type le ferment réducteur des nitrates de Abelous et Gérard (134). Si le résultat est identique dans es deux cas, les procédés qui y conduisent peuvent ne pas être toujours les mêmes.

La présence de ferments de ce genre a permis d'expliquer certaines réactions, en apparence contradictoires. C'est ainsi que l'extrait du foie de Crustacés bleuit instantanément et très énergiquement la teinture de gaïac, puis le mélange se décolore au bout d'un certain temps (Abelous et Biarnès) : il renferme une réductase. Il fallait voir si le manque de précision des résultats, obtenus dans la recherche des oxydases du Suberites, ne tiendrait pas à des phénomènes analogues.

A cet effet, deux centimètres cubes de suc d'éponge, suc normal et suc bouilli, ont été additionnés de 10 centimètres cubes d'une solution de nitrate de potasse à 8 % en présence de chloroforme. Après deux jours de contact dans l'étuve à 37°, la recherche des nitrites a été négative avec les réactifs de Trommsdorff et de Griess, pour les deux essais mis en présence. En remplaçant le nitrate de potasse par un volume égal d'une solution d'arséniate disodique à 2 0/0, puis, après deux jours de séjour à l'étuve, en précipitant l'arséniate restant à l'état d'arséniate ammoniaco-magnésien, il a été possible d'obtenir les réactions des arsénites avec les liqueurs filtrées ; ces réactions étaient plus marquées pour l'expérience qui a été conduite avec du suc non chauffé.

Le résultat a été identique en ne mettant que 5 cc. des

solutions d'arséniate et de nitrate, et en maintenant le mélange dans une étuve à 20°.

Dans un autre essai, 2 cc. de suc ont été additionnés de 0 gr. 20 de soufre sublimé lavé et d'éther. Après trois jours de contact, la réaction de l'hydrogène sulfuré a été absolument négative (nitroprussiate de soude, perchlorure de fer après transformation en sulfocyanure de potassium).

En ajoutant à 2 cc. de suc, normal ou bouilli, 5 cc. d'eau chloroformée et trois gouttes d'une solution assez faible de bleu de méthylène, et laissant le tout dans l'étuve à 20°, après quelques heures la décoloration est complète dans les deux tubes. Il est alors ajouté à chacun d'eux six gouttes de la même solution de bleu de méthylène; après six jours la décoloration est encore faite en grande partie, mais principalement dans le tube qui renferme le suc non bouilli. On constate également que dans les deux tubes elle se fait dans le fond du mélange, où elle est complète, alors que la surface est encore très nettement colorée; à la surface du liquide il se fait évidemment une réoxydation au contact de l'air, avec ou sans intervention d'oxydase.

Il est impossible de conclure de ces expériences à l'existence du ferment recherché: ainsi qu'on l'a vu, le nitrate de potasse n'a pas subi la moindre réduction; l'arséniate de soude a bien été ramené partiellement à l'état d'arsénite, mais le suc bouilli ne s'est pas montré dépourvu d'action sur lui. Même observation en ce qui concerne le bleu de méthylène, dont la fragilité vis-à-vis de beaucoup de substances organiques est d'ailleurs bien connue.

Amylase.

La présence d'un ferment de ce genre a déjà été signalée par Krukenberg (148) et par Griffiths (141). Ces recherches, un peu anciennes déjà, sont passibles des mêmes critiques que l'on trouvera plus loin, au sujet des travaux des mêmes auteurs sur les diastases chargées de digérer les matières albuminoïdes.

Dans mes expériences, je me suis servi de fécule de pomme de terre, purifiée suivant la méthode que conseille Yvon (170), en opérant, comme à l'habitude, en présence d'un excès d'éther ou de chloroforme. Le chloroforme a ici un inconvénient, c'est que, se ramassant au fond du tube à essai, il isole du contact du suc une certaine quantité de l'amidon, et ne permet pas de comparer les diverses expériences; l'éther est donc préférable.

Il est aisé de voir que le suc de *Suberites* possède un pouvoir amylolytique marqué: il transforme l'amidon, cru ou cuit, en sucre réduisant la liqueur de Fehling; il renfermerait donc, suivant la théorie de Duclaux (137), une amylase et une dextrinase réunies. Dans les expériences faites comparativement avec du suc bouilli, la fécule reste inaltérée.

Cette diastase est très nettement acidophile, ainsi que l'indiquent les expériences suivantes, faites avec l'aide de solutions décimales d'acide sulfurique et de carbonate de soude. Cinq tubes à essai ont reçu chacun 10 cc. d'em-

pois d'amidon, de titre inconnu, puis 2 cc. de suc d'éponge, cinq gouttes de chloroforme, et en plus :

tube A X gout. d'eau chlor.

tube B VIII » » » et II gout. d'ac. sulf. N/10

» C IV » » » VI » » »

» D VI » » » IV gout. de c. de s. N/10

» E II » » » VIII » » »

La richesse en acide était en A de 78 mgr. par litre, en B de 235 mgr., elle était en carbonate de soude anhydre de 170 mgr. en D et de 340 en E. Après 16 heures de séjour à l'étuve à 37°, le contenu des tubes a été neutralisé par l'addition d'alcali ou d'acide suivant les cas et dilué à 100 cc. ; ces dilutions ont été ajoutées à chaud à 5 cc. de liqueur de Fehling (correspondant à 0 gr. 028 de glucose). La décoloration totale a demandé :

50 cc. dilut. A, soit	0 gr. 056	glucose total.		
35 cc. » B, »	0 gr. 080	»	»	
19 cc. » C, »	0 gr. 147	»	»	
> 50 cc. » D, »	< 0 gr. 05	»	»	
> 50 cc. » E, »	< 0 gr. 05	»	»	

Des tubes témoins, renfermant du suc bouilli avec des doses égales d'acide ou d'alcali, n'ont pas accusé le moindre pouvoir réducteur sur la liqueur cupropotassique.

Une autre expérience a été faite en mettant dans chaque tube deux grammes de fécule crue, 6 cc. d'eau et 2 cc.

de suc, ainsi que des doses croissantes d'acide : II, IV, VI, VIII, X, XII gouttes de liqueur sulfurique décinormale, et de l'eau chloroformée en quantité suffisante pour compléter le nombre de douze gouttes. Le maximum de pouvoir réducteur a été pour l'essai qui contenait VI gouttes de liqueur acide, ce qui fait un degré d'acidité d'environ 342 mgr par litre. Kjeldahl avait trouvé (Duclaux p. 243) que la dose la plus favorable pour l'amylase du malt est de 20 mgr par litre d'anhydride SO^3 , ce qui fait 24,5 d'acide SO^4H^1 .

La dose optima que j'ai obtenue est de plus de dix fois supérieure à celle qu'a donnée Kjeldahl ; n'oublions pas toutefois que les sels renfermés dans le suc de Suberites peuvent absorber pour leur compte une partie de l'acide sulfurique ajouté, et que les acides organiques ont en général un pouvoir adjuvant très faible à l'égard des amylases. Fernbach a bien constaté, au sujet de la sucrase, que, en faisant agir sur du sucre de l'eau distillée bouillie et acidulée et des liqueurs diastasifères bouillies d'acidité égale, on obtenait toujours un à deux centigrammes de glucose en plus avec l'eau distillée ; ce qui prouve que la présence des sels, dans sa solution de sucrase, avait diminué le degré de l'acidité utile. D'ailleurs Kjeldahl avait fait ses expériences à la température de 57-59°, et, ainsi qu'on le verra pour la sucrase, cette question de température joue ici un rôle des plus importants : la dose d'effet maximum de l'acide diminue à mesure que la température s'élève.

Pour examiner l'action empêchante des alcalis sur l'amylase du Suberites, je me suis servi du carbonate de

soude ; ce sel serait mal choisi d'après Duggan (Duclaux p. 490), car si la soude caustique réduit l'action primitive à 26 0/0 de sa valeur, à la dose de 20 mgr. par litre, le carbonate de soude ne commencerait à agir qu'à la dose de 500 mgr. par litre ; les bicarbonates seraient même inactifs.

Cette dernière affirmation au sujet du carbonate de soude me paraît trop absolue. En effet, il paraît résulter de l'ensemble de mes expériences qu'il ne peut pas y avoir, pour l'amylase du *Suberites*, de dose de carbonate à laquelle on puisse fixer le début de l'action empêchante. Représentons la marche du phénomène par une courbe (1), et comptons sur l'axe des abscisses, à gauche du zéro, les doses croissantes d'acide, et à droite les doses croissantes d'alcali, nous aurons autour du zéro une zone, à limites variables avec le réactif considéré, et correspondant à la neutralité. La courbe présentera un maximum, correspondant à environ 340 mgr. d'acide, puis s'inclinera vers la zone neutre et se rapprochera graduellement de l'axe des abscisses à mesure que les doses d'alcali augmenteront. Vers la gauche la courbe, après avoir passé par un minimum, se relèverait vers l'infini à mesure que l'acidité augmenterait. Cette nouvelle ascension de la courbe doit être négligée : elle représente l'amylolyse due à l'acide lui-même, sans intervention diastatique, et se retrouverait identique pour les essais faits avec le suc bouilli. A partir de quel moment précis commence l'action empêchante des alcalis, ou l'action adju-

1. Voir une courbe analogue, pour la sucrase.

vante des acides ? Il est impossible de le dire, car nous n'avons qu'une courbe régulière, sans sauts brusques ; nous ne pouvons poser qu'une conclusion certaine, c'est que l'amylase du *Suberites* est manifestement acidophile.

Cette diastase doit se trouver dans les cellules mésodermiques de l'animal. C'est là, nous le savons, que se trouvent les dépôts amylicés des éponges ; il est probable que les éléments qui servent de grenier sont capables de sécréter, au moment voulu, le ferment chargé de rendre leurs réserves assimilables. Les gemmules du *Suberites*, qui accumulent les mêmes hydrates de carbone, doivent aussi posséder la même diastase. Il me paraît impossible d'attribuer ce ferment à des animaux commensaux du Spongiaire ou à des Algues. Celles-ci sont trop peu abondantes, à l'ordinaire tout au moins, et leur volume est trop faible par rapport à celui de l'éponge dans laquelle elles vivent pour qu'on puisse leur rapporter le ferment amylolytique renfermé dans le suc.

Sucrase.

Le suc de *Suberites* intervient les solutions de saccharose ; cette action est acidophile. Est-ce là l'effet d'une diastase spéciale, ou au contraire une transformation due encore à l'amylase ? Il serait fort difficile de répondre à cette question d'une façon précise. La tendance actuelle paraît être de multiplier les ferments. Duclaux, qui voit dans l'amylase ordinaire le mélange d'une amylase et d'une dextrinase, fait à plus forte raison une individualité distincte de la sucrase ; Delacroix a du reste trouvé cette

dernière pure de mélange avec l'amylase dans le *Penicillium Duclauxi*.

Je suivrai l'exemple de Duclaux et dirai quelques mots de la sucrase du *Suberites*.

Elle est acidophile, ainsi que le démontre l'expérience suivante : 2 cc. de suc sont ajoutés à 10 cc. d'une solution de saccharose à 5 0/0, ainsi que XX gouttes de chloroforme, et

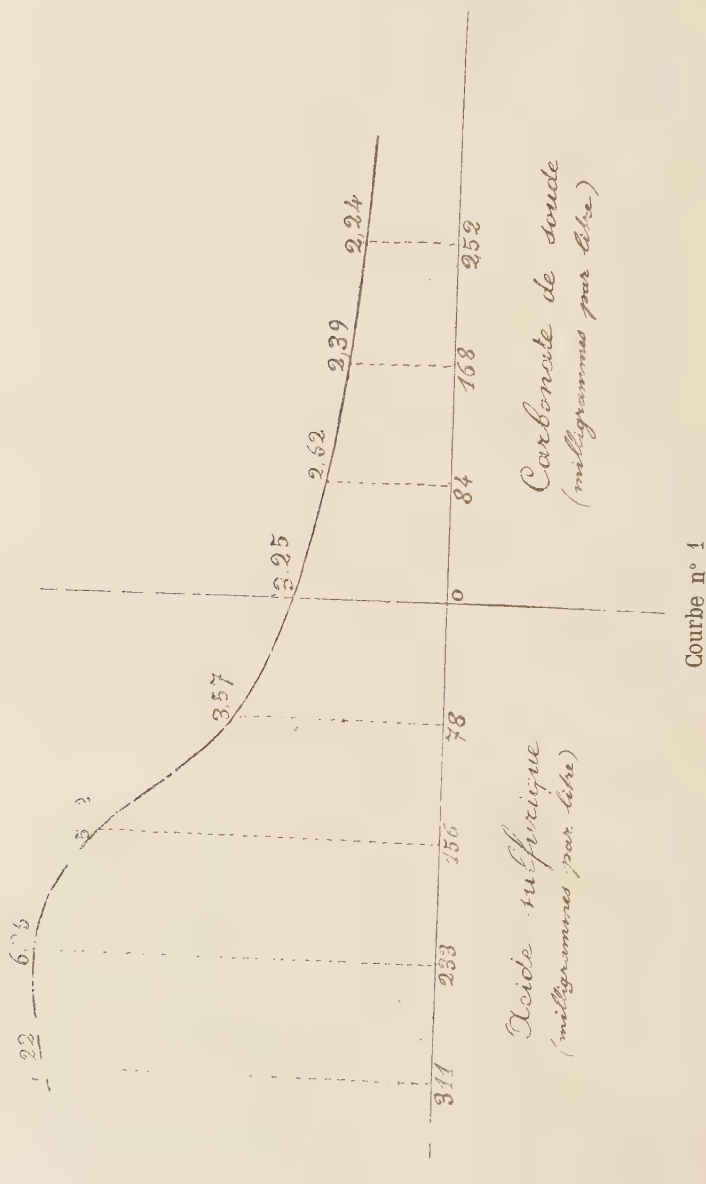
tube A VIII gout. d'ac. sulf. N/10 et IV g. d'eau chlor.

» B VI	» » »	VI	» »
» C IV	» » »	VIII	» »
» D II	» » »	X	» »
» E		XII	» »
» F II	de carb. de soude N/10	X	» »
» G IV	» »	VIII	» »
» H VI	» »	VI	» »
» I VIII	» »	IV	» »
» J X	» »	II	» »
» K XII	» »		

Après 22 heures de contact à 37°, le contenu de chaque tube est dilué à 50 cc., et le liquide ainsi obtenu sert à décolorer 1 cc. de liqueur de Fehling (correspondant à 0 gr. 0056 de glucose). Il faut à cet effet :

A	9 cc.	Tot. du sucre interverti	0 g. 0622 ou 11,82 0/0
B	8,8	» »	0 g. 0636 » 12,08
C	10,15	» »	0 g. 0552 » 10,48
D	15,9	» »	0 g. 0357 » 6,78
E	17,2	» »	0 g. 0325 » 6,18
F	21,4	» »	0 g. 0262 » 5
G	23,45	» »	0 g. 0239 » 4,54
H	> 25	}	» < 0 g. 0224 » < 4,25
I	> 25		
J	(essai perdu)		
K	> 25		

On pourrait représenter ces résultats par la courbe ci-dessous.



La dose d'acide optima serait donc située aux environs de 235 milligr. par litre ; si nous comparons ce chiffre à ceux qu'ont donnés différents auteurs au sujet d'autres sucraes, il y a lieu de faire les mêmes observations que pour l'amylase. En effet Fernbach, étudiant la sucrase de l'aspergillus (Duclaux, p. 239), est arrivé aux chiffres de 23-25 milligr. par litre comme dose optima pour les essais effectués à 56°. O'Sullivan et Tompson ont trouvé que cette dose est variable avec la température et la quantité du ferment ; pour une quantité de diastase donnée, la dose optima qui était de 75 milligr. à 15° n'était plus que de 15 milligr. à 56°.

Duclaux (p. 235) a vu qu'une sucrase d'aspergillus devient 25 fois plus faible quand on l'additionne de 1/1000 de soude caustique. Fernbach, dans un travail déjà cité, a expérimenté également sur des ferments de même origine, ce qui lui a permis d'avoir des liquides diastasi-fères beaucoup plus purs que ne pouvaient l'être ceux sur lesquels j'ai opéré. D'après ses observations une sucrase qui, légèrement acide, était capable d'intervertir, en une heure de séjour à 56°, 35,1 0/0 du saccharose offert, et en liqueur neutre de 12,1 à 7,1 0/0 n'en intervertissait plus que 5,3 quand l'alcalinité en soude était évaluable à 4 mgr. 5 par litre, et 3,9 quand elle était de 8 milligr. 5. Si l'alcalinité croît encore, toute action s'arrête bientôt.

Comme tous les ferments, les sucraes sont sensibles à l'action de la température. O'Sullivan et Tompson (Duclaux p. 186) ont constaté qu'un chauffage rapide à 55°, en solution non sucrée, détruit la sucrase d'aspergillus.

Celle que nous étudions en ce moment paraît plus résistante. En effet j'ai mis à l'étuve à 37°, avec 11 gouttes d'acide sulfurique N/10, ce qui équivaut à une acidité de 96 millig. par litre, 5 cc. d'une solution de sucre candi à 2 0/0 et 5 cc. de suc, préalablement chauffé pendant une heure à diverses températures. Après 48 heures de contact, le titrage a été fait à la liqueur cupropotassique ; voici les résultats obtenus, exprimés en glucose :

Suc normal.	0 gr. 100
— chauffé à 37° . . .	0 gr. 100
— — à 50° . . .	0 gr. 073
— — à 60° . . .	0 gr. 059
— — à 70° . . .	0 gr. 059
— — à 80° . . .	0 gr. 014
— — à 100° . . .	0 gr.

Ainsi qu'on le voit, la sucrase du *Suberites* serait beaucoup moins fragile que celle dont Kjeldahl a fait l'étude, puisqu'elle n'aurait pas été entièrement détruite par un chauffage d'une heure à 80°. Cependant remarquons une fois de plus qu'il est impossible de comparer d'une façon absolue les résultats d'expériences entreprises dans des conditions différentes ; chaque fois qu'il s'agit de ces agents mystérieux que nous appelons diastases, la moindre modification apportée aux conditions d'expériences peut avoir des conséquences inattendues. Dans le cas qui nous occupe, les milieux extérieurs ont manifestement une composition différente, et cela pourrait suffire à expliquer l'écart que nous constatons entre les températures mortelles pour les sucres,

Lipase.

Si j'ai dit (7) que ce ferment n'avait pas été signalé chez les Eponges, c'est qu'à ce moment je n'avais pas pu me procurer encore l'ouvrage de Griffiths (141). J'ai vu depuis que l'auteur anglais a reconnu la présence dans les cellules de Porifera (indéterminées ?) d'une diastase qui émulsionne les graisses neutres et les transforme finalement en acides gras et en glycérine. Il s'agit donc d'une lipase. Au sujet des ferments des albuminoïdes, j'aurai à faire remarquer que le travail de Griffiths a subi le sort d'un certain nombre de publications antérieures sur ces délicates questions, publications devenues rapidement caduques, et que ses résultats ne doivent pas être enregistrés sans hésitations, car il ne paraît pas avoir éliminé des causes d'erreur de la plus haute importance.

Les conclusions qu'il nous donne sont cependant parfaitement exactes, si nous considérons le Sub. domuncula : le suc de cet animal renferme réellement un ferment qui saponifie les graisses. Il est facile de mettre le fait en évidence, même avec les huiles grasses : en recouvrant du suc, normal ou bouilli, avec de l'huile de ricin et en agitant fréquemment le mélange, on ne tarde pas à voir la couche d'huile qui surmonte le suc normal, acquérir une épaisseur double de celle qui est en contact avec le suc bouilli. Pour des recherches plus précises, il convient d'employer la monobutyryne de la glycérine, éther qui présente le grand avantage d'être aisément

soluble dans l'eau et de permettre, si l'on veut, des dosages exacts.

En mélangeant le suc d'éponge à une solution de monobutyryne, en y ajoutant quelques gouttes de teinture de tournesol et une solution décimale de potasse jusqu'au virage à la teinte bleue, on obtiendra un mélange qui deviendra rouge lorsque le corps gras sera décomposé. Quelques auteurs emploient la phénolphtaléine pour obtenir une réaction de ce genre, mais le réactif serait ici mal choisi : la teinte brune, prise au contact de l'air par le suc expérimenté, masque et couvre la couleur rouge initiale que l'alcali a donnée à la phénolphtaléine. Le tournesol fournit des résultats autrement nets. On ne peut pas espérer cependant avoir ainsi des réactions bien délicates, car les couleurs obtenues ne sont pas très franches ; le suc de *Suberites* paraît exercer sur le tournesol une action décolorante qui rappelle celle que subit le bleu de méthylène dans les mêmes conditions. Lorsque l'action fermentaire est faible, et la saponification du corps gras à peine ébauchée, il se forme une sorte de couleur violette, intermédiaire entre le bleu et le rouge, qui pourrait laisser quelque hésitation si l'on n'avait pas de réaction bien typique à lui comparer.

Quand on veut, non pas seulement constater, mais encore mesurer une saponification diastasique, il faut avoir recours aux dosages acidimétriques. Toutefois une difficulté se présente dans le choix de l'antiseptique à employer ; le chloroforme, dont mes liquides étaient saturés, se trouve en quantité insuffisante pour assurer une longue conservation, lorsqu'on dilue le liquide par l'addition

d'une solution de monobutyryne ; il faut se garder toutefois d'ajouter alors un excès de chloroforme ou d'éther. Ces deux substances auraient l'inconvénient d'entraîner une partie de l'acide butyrique formé et, au titrage, on n'obtiendrait qu'un chiffre trop faible. Un moyen de parer à cet inconvénient est de dissoudre la monobutyryne dans de l'eau chloroformée saturée et filtrée sur un filtre mouillé. En ajoutant ensuite cette solution au suc du Spongiaire, saturé de chloroforme lui aussi, on a un liquide qui résistera aux invasions bactériennes à condition de le maintenir, comme à l'ordinaire, dans des tubes bien bouchés au liège.

En opérant avec ces précautions, il est aisé de constater que la lipase du *Suberites* ne paraît se distinguer en rien des ferments analogues qui ont été déjà signalés. Elle possède une résistance assez grande à la chaleur ; une heure de chauffage à 70° l'atténue fortement, à 80° elle est totalement détruite. C'est donc entre ces deux températures que se trouve la température mortelle pour elle, dans les conditions où j'ai expérimenté.

Au sujet de l'utilité physiologique, pour l'animal, d'une diastase de ce genre, je rappellerai que Krukenberg a cru reconnaître la présence de corps gras dans le *Suberites domuncula* ; j'ai été, il est vrai, moins heureux que lui dans cette même recherche, entreprise sans doute dans une saison différente. D'ailleurs le pigment rouge semble être, vu l'ensemble de ses caractères et de ses réactions, voisin des glycérides ou associé à des glycérides. On comprend dès lors aisément pourquoi le Spon-

giaire a besoin d'un ferment chargé de saponifier les graisses.

Du reste, Lendenfeld (80) nous apprend que la plupart des Eponges étudiées à ce point de vue acceptent volontiers le lait comme nourriture et l'assimilent rapidement. C'est à un ferment du genre de celui qui a été signalé ci-dessus que ce résultat doit être évidemment attribué.

Protéase.

Ce nom de ferment n'est pas d'un choix très heureux, car il peut s'appliquer à trop de diastases à la fois. Il est possible que, plus tard, on arrive à comprendre sous un même nom tous les ferments qui hydrolysent les matières protéiques ; la tendance actuelle est bien différente, et il vaudrait mieux alors adopter un vocabulaire de mots précis, dont le sens ne puisse prêter à aucune confusion. Afin de respecter une terminologie déjà employée (Malfitano, 158), je me servirai cependant du nom de protéase, en lui faisant toutefois désigner exclusivement le ferment qui liquéfie la gélatine solidifiée.

Pour déceler son existence, la méthode employée a été celle de Fermi : le liquide diastasifère était versé sur de la gélatine contenue dans un tube à essai, et la diminution d'épaisseur de la couche solide donnait la richesse du suc en ferment actif. Cette mesure n'est pas d'une précision absolue ; le procédé est passible des mêmes objections que la méthode Mette (voir Duclaux, art.

Trypsine). Pour avoir des résultats exacts, il faudrait employer le procédé de Beckmann.

Dans la méthode de Fermi l'action est d'ailleurs assez lente ; elle est beaucoup plus rapide quand on mélange le suc et les solutions de gélatine, liquéfiées à une douce chaleur, à cause de l'énorme multiplication des surfaces de contact. En opérant sur la gélatine solidifiée il se produit, au fur et à mesure de la dissolution de celle-ci, une augmentation graduelle de la densité des couches inférieures du liquide, ce qui oblige à agiter fréquemment les mélanges en expérience. Mais ce procédé est d'une telle simplicité d'exécution, comparativement à ceux qui ont été proposés pour le remplacer, que j'ai cru devoir lui donner la préférence pour des essais rapides.

Les solutions de gélatine ont été faites à la dose de 10 0/0, neutralisées exactement avec de la soude caustique, chauffées pendant un quart d'heure à l'autoclave à 105°, puis filtrées. Elles étaient alors réparties, par 10 cc., dans des tubes à essai de diamètres égaux. Je n'ai pas cru devoir ajouter des antiseptiques à fonctions chimiques marquées, telles que le phénol, le thymol, afin de pouvoir étudier plus facilement le rôle adjuvant des alcalis. Le chloroforme ne peut pas être employé ici, car il formerait une couche isolante entre le suc et la gélatine. Il vaut mieux mettre quelques gouttes d'éther à la surface du liquide, et prendre garde alors d'agiter ultérieurement les tubes avec beaucoup de précautions, pour ne pas avoir à la partie supérieure une sorte d'émulsion, dans laquelle une certaine quantité des diastases se trouverait momentanément dissimulée. Il est inutile d'ajouter

des poudres colorées pour voir à quel niveau s'élève la couche solide, la couleur brune du suc suffit amplement à cette détermination.

Un certain nombre d'essais ont dû être sacrifiés, parce que l'action était capricieuse : au lieu de se faire, comme à l'habitude, une surface à peu près plane à la zone de séparation, il se formait dans la masse de la gélatine une sorte de faille dans laquelle s'insinuait avec rapidité une mince lame liquide, ce qui rendait impossible toute évaluation. Ce phénomène s'est surtout montré avec les extraits glycélinés.

Un fait domine l'histoire de cette protéase, c'est qu'elle est très nettement basophile. Des doses d'acide, même faibles, gênent fortement la protéolyse, et l'action empêchante est d'autant plus marquée que l'acidité est plus forte. Avec une dose d'acide sulfurique de 500 mgr par litre environ, il n'y a que 3 à 4 mm. de gélatine liquéfiés après huit jours de contact, alors que quelques heures suffisaient amplement pour produire une attaque égale, avec le même suc neutre.

L'addition des alcalis est au contraire adjuvante. Voici à ce sujet les résultats d'une expérience faite avec un suc un peu ancien déjà, et à pouvoir diastasique affaibli. 5 cc. de suc ont été versés sur 10 cc. de gélatine solidifiée, avec des doses croissantes de carbonate de soude N/10 et de l'eau chloroformée en quantité suffisante pour compléter à 28 le nombre des gouttes ajoutées.

A XXVIII goutt. d'eau.

B XXIV	»	»	+ IV g.d'alcali, soit 331 mgr. par lit.		
C XX	»	»	VIII	»	662 » »
D XVI	»	»	XII	»	993 » »
E XII	»	»	XVI	»	1324 » »
F VIII	»	»	XX	»	1655 » »
G	»	»	XXVIII	»	2317 » »
H IV	»	»	XXXIV (par erreur)		2612 » »

Le mélange a été mis à l'étuve à 20°. Les quantités de gélatine dissoute ont été :

	Après 1 jour	Après 3 jours	Après 5 jours
A	0 cm. 25	0 cm. 60	0 cm. 80
B	0,30	0,60	0,80
C	0,35	0,70	0,95
D	0,35	0,70	1 »
E	0,40	0,90	1,10
F	0,40	0,75	1,05
G	0,35	0,75	1,05
H	0,45	0,95	1,30

On peut remarquer que la liquéfaction produite après cinq jours n'est que le triple environ de celle qui s'était faite pendant la première journée. Cela se comprend aisément si l'on tient compte de ce fait que la protéolyse de la gélatine, ayant pour résultat d'augmenter le volume du liquide, produit une dilution des diastases et, ce qui a aussi son importance, une dilution du carbonate de soude ; d'où diminution graduelle de l'alcalinité du mélange et

affaiblissement de l'énergie du suc. L'inverse se produit pour les acides : l'action est très longue à s'amorcer, mais elle semble par la suite se continuer plus aisément, à mesure que l'acidité du milieu tend à baisser.

La peptonisation de la gélatine est précédée d'une liquéfaction. Maintenons quelques heures dans une étuve modérément chauffée, à 20° par exemple, des tubes de gélatine surmontée d'une couche de suc de Suberites, en agitant fréquemment pour rendre l'attaque le plus énergique possible. En portant ensuite les tubes dans l'eau froide, le liquide de la surface se prend en masse, ce qui prouve bien que la liquéfaction est à son début un phénomène physique, n'atteignant pas la molécule de l'albuminoïde. Mais observons quelques heures plus tard ces mêmes tubes, toujours conservés dans l'eau froide, nous trouverons que la partie supérieure du contenu s'est de nouveau liquéfiée. Elle ne peut plus se solidifier maintenant, quoi que l'on fasse : l'action chimique a eu lieu, la molécule a été définitivement altérée. On peut facilement mettre en évidence les profondes modifications chimiques qui ont eu lieu en ajoutant une solution diluée de perchlorure de fer : il se forme une coloration rouge détruite par les acides minéraux (glycocolle et autres dérivés de l'acide acétique); la protéolyse, après avoir fait passer la substance albuminoïde par les stades de proto et de deutogélatose, est allée plus loin que l'état même de peptone et est arrivée jusqu'aux acides amidés.

Pour voir l'effet du chauffage sur cette protéase, il a été mis en contact dans l'étuve à 37° un mélange, liquide à cette température, de 10 cc. de gélatine à 10 0/0, 2 cc.

de suc normal ou chauffé à diverses températures, X gouttes d'eau chloroformée et XX gouttes de chloroforme. Après 24 heures, les tubes ont été plongés dans de l'eau courante à 17°. Une heure plus tard, les tubes qui avaient reçu du suc bouilli ou chauffé à 80° étaient seuls pris en masse; le contenu des autres était resté liquide. Il suffit donc, pour détruire la diastase qui nous occupe, de chauffer pendant une heure le suc de *Suberites* à une température comprise entre 70 et 80.

Il est à remarquer que le pouvoir protéolytique des sucs que j'ai examinés n'était pas, à tout prendre, d'une grande énergie. En rapprochant de la présence de cette protéase, qui agit comme décoagulase, celle d'une présure qui est une coagulase acidophile, on peut se demander si ce dernier ferment n'agirait pas comme substance empêchante, et si la protéase ne nous apparaîtrait pas comme basophile parce que son antagoniste aurait une propriété opposée.

Subéripsine.

Sous ce nom provisoire, qui ne préjuge en rien de ses analogies et de ses propriétés, et qui permet d'éviter l'emploi de continuelles circonlocutions, je désignerai le ferment auquel le suc de *Suberites* doit de pouvoir hydrolyser les matières albuminoïdes.

La connaissance des ferments digestifs chez les éponges n'est pas de date récente. Frédéricq (138), en 1878, fait connaître l'existence d'une pancréatine chez ces ani-

maux ; la même année Krukenberg (144) observe chez eux la présence de ferments digestifs dont il n'a pas constaté la fonction. Plus tard (1) il continue ses recherches et observe notamment que l'extrait glycéринé du *Subdomuncula* renferme une pepsine. Griffiths (141), en 1892, reprend les travaux de Frédéricq et déclare que les éponges sécrètent une pancréatine identique à celle des animaux supérieurs, c'est-à-dire capable d'hydrolyser l'amidon, de saponifier les graisses et de digérer la fibrine en milieu alcalin. Malheureusement ces renseignements ne peuvent pas être d'une grande utilité pour nous ; d'abord parce que, sauf Krukenberg, les autres auteurs n'ont pas caractérisé les animaux sur lesquels il ont opéré ; en deuxième lieu parce que leurs travaux, datant d'une époque où les diastases et les bactéries étaient encore trop peu connues, doivent être vérifiés avec le plus grand soin.

Frédéricq, un des physiologistes les plus éminents de notre époque, s'est servi pour ses expériences d'un certain nombre d'éponges (d'espèces indéterminées) pêchées à Roscoff et conservées dans l'alcool depuis deux ans ; elles ont été hachées, puis mises à macérer avec de l'eau acidulée à l'acide chlorhydrique ou additionnée de carbonate de soude. La liqueur alcaline a digéré assez bien la fibrine de porc à la température de 40-45° ; le liquide acide s'est montré inactif. Maintenant que les fermentations bactériennes nous sont connues, il nous faut évidemment rapporter à l'invasion des microorganismes l'action diastasique attribuée aux éponges par l'auteur

1. Cité par lui-même (148) et par Solger (111).

Je n'ai pas pu me procurer encore la publication dans laquelle Krukenberg a fait connaître le résultat de ses recherches sur le ferment digestif du *Sub. domuncula*; les quelques renseignements qui vont suivre ont été empruntés à l'article de Solger (111). Ce dernier nous apprend que la fibrine est aisément digérée quand elle est mise à la surface de certaines éponges (*Sub. domuncula*, *Chondrosia reniformis*); elle ne l'est plus quand les fils de fibrine sont profondément enfoncés dans l'animal. En étudiant l'action des extraits glycéринés, Krukenberg a vu aussi que le *Sub. domuncula* renferme une pepsine, de même que la *Tethya lyncureum*, l'*Hircinia variabilis*, la *Chondrosia reniformis* et l'*Aplysina aerophoba*.

Sur ce dernier point il est impossible de faire aucune observation, dans l'ignorance où nous sommes du procédé suivi par l'auteur. Quant à ce qui précède, il est aisé de remarquer que la fibrine, directement placée sur l'animal vivant, a été détruite au cours des expériences par les bactéries contenues dans l'eau de mer; celle qui a été enfermée dans la profondeur des tissus du Spongiaire a été soustraite à cette influence, et s'est conservée intacte dans le milieu stérile dans lequel elle a été maintenue. Il est étonnant cependant qu'elle n'ait pas été attaquée par les Spongiaires eux-mêmes; il est probable que ces animaux, très sensibles aux influences extérieures, n'avaient plus une vitalité suffisante après avoir été manipulés, sectionnés et tenus en aquarium.

Griffiths ne nous renseigne pas sur le mode opératoire qu'il a suivi, ni sur les espèces qui lui ont servi de sujet d'étude. Mais nous voyons qu'à plusieurs reprises, dans

le cours de son ouvrage, l'auteur anglais cite avec détails la technique de Frédéricq, et dans des termes nous permettant de croire qu'il lui donne son entière approbation. Il est donc probable que son procédé opératoire ne s'est pas éloigné sensiblement de celui de Frédéricq, et ce serait encore à l'intervention des bactéries qu'il faudrait rapporter les résultats observés par lui.

On voit que cette question mérite d'être étudiée à nouveau.

J'ai préparé pour mes expériences de la fibrine de veau en la lavant longuement à grande eau, puis à l'alcool et finalement à l'éther. Elle a été ensuite conservée pour l'usage dans de la glycérine : tous les essais ont porté sur de la fibrine provenant de la même préparation, et toujours sur de la fibrine crue. Mettons-en quelques flocons dans du suc de *Suberites* ; nous pouvons constater que l'attaque est presque nulle, même après un contact longtemps prolongé : l'albuminoïde semble intact, il est seulement un peu augmenté de volume d'ordinaire ; cependant la réaction du biuret est devenue positive sur le liquide. Il y a donc eu une action produite, mais une action très légère. Sans vouloir identifier les deux cas, on peut d'ailleurs faire remarquer que j'avais échoué complètement en essayant de faire clarifier par autodigestion les liquides provenant de l'expression des éponges : la clarification ne s'était faite ni en liqueur alcaline, ni en liqueur acide. Comment expliquer ce phénomène ? Faut-il admettre qu'il n'y a pas de ferment du tout dans le suc, ou qu'il y a à la fois un ferment et une substance empêchante ?

En l'absence de tout ferment, il faudrait attribuer la légère attaque, constatée plus haut, à l'action des sels, du chloroforme chargé de conserver les sucs, ou encore de quelque substance indéterminée. Pour s'en assurer, il suffit de changer les conditions d'expérience et d'essayer les sucs d'éponge avec de l'albumine cuite, ou d'employer des sucs bouillis ; la fibrine immergée dans ceux-ci subit parfois une très légère attaque, car dans certains essais la réaction du biuret est devenue positive, mais toujours à peine appréciable. On doit évidemment voir là une manifestation de la digestion chloroformique de Marbaix et Denys, due à l'action combinée du chloroforme et des sels en présence, du chlorure de sodium principalement.

Les cubes d'albumine cuite restent inaltérés en apparence dans les sucs normaux, leurs arêtes vives ne sont pas adoucies, ils deviennent cependant plus transparents à la périphérie ; toutefois la réaction du biuret est encore positive, elle reste négative quand on opère avec des sucs bouillis. Nous ne pouvons plus prononcer ici le nom de digestion chloroformique, puisque celle-ci ne se produit pas avec l'albumine (de Marbaix et Denys) ; d'ailleurs la grande différence d'intensité de la réaction du biuret, sur des sucs chauffés ou normaux ayant reçu de la fibrine, doit nous faire admettre l'existence d'une diastase.

Voyons s'il n'y aurait pas à la fois diastase et substance empêchante, et pour cela répétons l'expérience de Wurtz. On sait que cet auteur immerge des flocons de fibrine dans les liquides diastasifères ; après un certain temps la fibrine, intacte en apparence, est retirée et lavée à grande eau. Elle semble avoir entraîné avec elle une

certaine quantité des ferments de la solution, puisque elle est digérée quand on la plonge dans de l'eau distillée. Cette expérience a, depuis, été refaite très souvent avec succès, et avec des ferments provenant des sources les plus variées.

Afin d'éviter la cause d'erreur due aux digestions chloroformiques, je me suis servi d'éther pour prévenir les fermentations anormales ; il y a quelques précautions à prendre dans ce cas, car les flocons de fibrine, devenus très légers lorsqu'ils se sont gonflés, tendent à venir flotter sur le liquide et à se perdre dans la couche d'éther qui surmonte le tout.

Si nous mettons dans de l'eau distillée acide ou alcaline des flocons de fibrine, préalablement immergés dans du suc de *Suberites* normal ou bouilli, puis abondamment lavés à l'eau distillée, il est aisé de constater que la fibrine qui a passé par le suc normal disparaît lentement, l'autre reste inaltérée. Les tubes qui renferment celle-ci ne donnent pas la réaction du biuret, les autres la fournissent avec une grande intensité. L'albumine cuite ne peut pas servir pour ces expériences : avec elle les résultats sont constamment négatifs.

Nous voici donc arrivés à ce résultat, que la digestion se fait mieux dans l'eau distillée que dans le suc d'éponge, à condition toutefois d'impressionner la fibrine par une macération préalable dans ce même suc : celui-ci renfermerait donc une substance empêchante surajoutée au ferment et en neutralisant l'effet. Le liquide complexe qui a servi aux expériences est peut-être un très mauvais véhicule pour la subéripsine : nous ne savons pas si celle

ci se trouve normalement hors des cellules qui la sécrètent, ou reste au contraire intra-cellulaire, et il est très possible que le suc provenant de l'expression des animaux constitue pour elle un milieu aussi peu favorable que possible. Nous connaissons la susceptibilité extrême de certaines diastases pour des sels minéraux ; dans le cas actuel les substances empêchantes peuvent être des sels, ce sont peut-être des diastases, peut-être d'autres substances encore. Dans l'impossibilité où l'on se trouve de les caractériser, on peut toujours voir si elles sont détruites à 100° (diastases, albumines, corps volatils, etc.) en immergeant des flocons de fibrine impressionnée, comparativement dans du suc bouilli et dans de l'eau chloroformée. Il n'y a pas dans ce cas de différence sensible dans la rapidité de la digestion ; le suc bouilli paraît avoir perdu le principe (diastase?) qui gêne la subéripine.

Le degré de peptonisation atteint dans les diverses expériences portant sur ce ferment était évalué d'après l'intensité de la réaction du biuret. Lorsqu'il n'y a que des traces de peptones formées, cette réaction n'est pas immédiate : l'addition de sulfate de cuivre en très faible quantité à la liqueur alcaline ne produit pas dès l'abord de coloration violette ; cette teinte n'apparaît que graduellement. Elle est immédiate dans les liquides riches. On peut retirer aussi quelques renseignements approximatifs de la quantité de sel cuivrique nécessaire pour arriver à la saturation ; voici ce que j'entends dire par ce mot. Lorsqu'on ajoute la solution cuivrique, goutte à goutte, à la liqueur alcalinisée, il ne se produit une précipitation

d'hydrate bleu que lorsque les peptones ont été saturées; le phénomène est annoncé par un changement de la teinte du mélange, qui passe au violet bleu. Si nous employons la même quantité de potasse dans tous les tubes, nous pouvons avoir une évaluation sur leur richesse comparée en peptone par l'intensité des colorations obtenues et par les quantités de sulfate de cuivre nécessaires à la saturation.

En opérant de la sorte, on constate aisément que, si le suc de *Suberites* digère mal la fibrine, il est cependant plus actif lorsqu'on l'additionne d'un acide : il serait très nettement acidophile. Je n'ai pas relevé chaque fois les doses exactes d'acide employées, ce qui fait que j'ignore s'il existe une dose d'acide optima. Dans une expérience, le suc en renfermait 1960 milligr. par litre, comparative-ment à 2120 milligr. de carbonate de soude; dans une autre il y avait 891 milligr. d'acide, et 954 mgr. de carbonate dans l'essai comparé. Si ces doses d'alcali ont été retardantes, elles n'ont pas été strictement empêchantes : les sucs alcalins ont fourni la réaction du biuret; de plus leur fibrine s'est ultérieurement digérée dans l'eau, aussi bien, en apparence, que la fibrine impressionnée par le séjour dans les sucs acides.

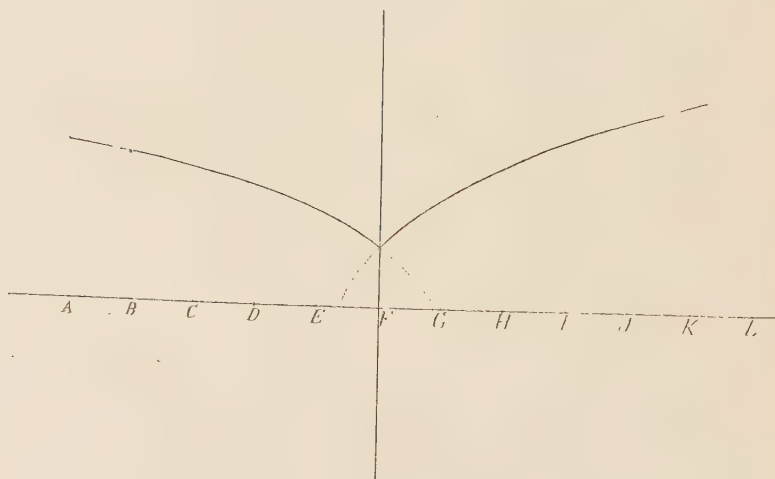
Si la subéripsine se montre acidophile quand on expérimente sur le suc, le phénomène devient plus complexe si l'on examine la digestion dans l'eau distillée : dans l'eau pure l'action est assez peu marquée; il est utile d'ajouter un acide ou un alcali. Mettons des flocons égaux de fibrine, ayant séjourné pendant trois jours dans du suc de *Suberites*, dans 10 cc, d'eau distillée, recouverte d'une

couche d'éther, et additionnée des doses ci-dessous d'acide ou d'alcali.

A	X				gouttes d'acide sulfur. N/10, soit 466 mgr. par litre	
B	VIII	»	»	»	» 377	»
C	VI	»	»	»	» 285	»
D	IV	»	»	»	» 192	»
E	II	»	»	»	» 97	»
F	O					
G	II				goutt. de carb. de soude N/10, soit 105	»
H	IV	»	»	»	» 208	»
I	VI	»	»	»	» 309	»
J	VIII	»	»	»	» 408	»
K	X	»	»	»	» 505	»
L	XII	»	»	»	» 600	»

Après trois jours de contact, la fibrine est de plus en plus gonflée en allant dans l'ordre suivant : C, B, A, D est mis hors de cause, car la fibrine s'est perdue dans la couche d'éther ; en E la fibrine est presque disparue, mais il y a un dépôt blanchâtre au fond ; le contenu du tube est au total identique à celui de G. En F la fibrine est presque intacte ; en H, I, J, K, L elle est de plus en plus disparue et est remplacée par un dépôt blanchâtre de moins en moins volumineux, tandis que le liquide présente une opalescence croissante. La réaction du biuret, faible en F, augmente graduellement en E, C, B, A. Dans

les tubes alcalins la coloration est un peu plus forte que dans les liqueurs acides, son maximum semble coïncider avec le maximum d'alcalinité. C'est ce que représente la courbe ci-dessous.



Courbe n° 2.

Pour voir si les peptonisations obtenues ne devraient pas être attribuées à l'action propre de l'acide ou de l'alcali employés, j'ai mis de la fibrine, pendant trois jours, dans de l'eau distillée recouverte d'éther et additionnée d'acide sulfurique à la dose de 192 mgr. par litre ou de 208 mgr de carbonate de soude. Ce temps écoulé, la fibrine du tube acide semblait très légèrement gonflée, l'autre était inaltérée ; la réaction du biuret a été absolument négative dans les deux cas, cependant la fibrine elle-même a pris, dans le tube acide, une coloration violette plus intense que l'autre. Le résultat a été absolument identique en soumettant au préalable la fibrine à une macération de trois jours dans du suc de *Suberites* bouilli. Il semble que, si la dose d'acide employée était insuffisante pour produire à elle seule la peptonisation de la fibrine, elle n'était cependant pas dépourvue de toute influence.

Nous avons donc, en résumé, une légère digestion acidophile dans le suc normal ; dans l'eau distillée l'action serait à peu près nulle en liqueur neutre, et à la fois acidophile (l'action croissant avec la dose d'acide) et basophile (l'action croissant avec la dose d'alcali), celle-ci étant cependant plus intense. Comment pouvons-nous interpréter ces résultats ? Pour la digestion qui se fait dans le suc normal, nous pouvons songer à une pepsine ; c'est d'ailleurs l'opinion de Krukenberg. Mais nous aurions alors une différence beaucoup plus marquée dans les réactions fournies par les tubes à contenu acide ou alcalin ; la digestion est plus active dans les liqueurs acides, il est vrai, toutefois il faut comparer les expériences

avec quelque soin pour s'en apercevoir. Il ne s'agit donc pas d'une pepsine.

Un certain nombre de travaux de ces dernières années nous ont cependant appris que les digestions intracellulaires des animaux inférieurs paraissent se faire en milieu acide ; Engelmann, Metchnikoff, Le Dantec ont vu rougir le tournesol à l'intérieur des vacuoles des Infusoires, des Amibes ; et si, entre les mains de Greenwood et de Metchnikoff, cette réaction a échoué avec d'autres animaux du même groupe, cela pourrait tenir à des variations individuelles, accidentelles, ou à ce fait que la teinture de tournesol employée par eux manquait peut-être de sensibilité. Ce qui permet d'accepter cette dernière hypothèse, c'est que, Metchnikoff n'ayant pas constaté de changement de couleur sur le tournesol bleu absorbé par la Spongille, Loisel l'a vu nettement devenir rouge dans l'intérieur des cellules du même animal. Malheureusement ces expériences, irréprochables au point de vue de l'exécution, le nom seul de leurs auteurs l'indique suffisamment, ne permettent pas de poser des conclusions bien précises. Les réactifs colorés nous apprennent bien que certaines vacuoles, formées dans un protoplasma alcalin, prennent graduellement une réaction acide ; cela nous prouve-t-il d'une façon certaine que toutes les digestions s'y fassent avec cette réaction ? Le liquide dans lequel baignent des particules alimentaires a rougi par le tournesol : c'est très bien ; mais sommes-nous là dans des conditions normales ; n'avons-nous pas sous les yeux un liquide pathologique sécrété sous l'influence d'une excitation inaccoutumée ; Et, vu l'impossibilité où nous sommes de répondre à ces

questions, nous ne pouvons pas conclure que la digestion intracellulaire des animaux étudiés soit strictement et toujours pepsique. Les expériences de Loisel (88) sont bien faites pour nous confirmer dans ces hésitations. Il a constaté que le rouge du Congo décèle la présence d'un acide dans les cellules digestives et flagellées de la *Reniera* Ingalli, que le tournesol devient rouge dans les cellules de la *Spongilla fluviatilis*; par contre, l'alizarine sulfo-acide, l'orangé III et la tropéoline 00, réactifs bien sensibles cependant, ne sont pas altérés dans ces conditions. Il est facile d'expliquer ces résultats en admettant que ces derniers colorants n'excitent pas le protoplasma cellulaire et ne lui font pas sécréter des substances acides; mais admettons, par contre, que les réactifs les premiers cités, s'ils produisent le phénomène inverse, ne nous renseignent peut-être pas suffisamment sur les actes intimes de la digestion. La question me paraît subsister à peu près entière.

Si la subéripsine n'est pas une pepsine, serait-elle une trypsine? L'examen de la courbe permettrait d'en attribuer toute la moitié, à droite de la ligne des ordonnées, à un ferment de ce genre. Ou faudrait-il admettre l'existence simultanée d'une pepsine et d'une trypsine? Ce serait encore plus admissible, car en prolongeant par des pointillés chacune des branches du V dont la courbe est formée, on obtiendrait la courbe propre de chacun de ces deux ferments digestifs. Voici ce que nous donne une expérience comparative faite avec de la pancréatine. De la fibrine, mise pendant 24 heures dans une pancréatine glycinée, d'une marque commerciale réputée, en quantité à peine suffisante

pour la recouvrir, a été ensuite lavée à grande eau, puis répartie dans une série de tubes à essai renfermant les mêmes doses d'alcali et d'acide que dans l'expérience de la page 92. Le quatrième jour, les résultats obtenus pouvaient être représentés par une courbe exactement calquée sur celle de la figure 2, à condition d'en déplacer le minimum et de le transporter au-dessus de E. Devons-nous ici encore admettre qu'il existe à la fois une trypsine et une pepsine mélangées ? Je crois qu'on doit fournir une autre explication.

Nous avons vu que la fibrine n'est pas digérée par l'eau distillée faiblement acide, mais cependant qu'elle s'y gonfle légèrement ; à même dose, l'acide sulfurique aura certainement une action bien plus marquée quand on lui fournira une fibrine déjà attaquée par la pancréatine, et c'est à cette action non diastasique que l'on doit, à mon avis, rapporter la moitié gauche de la courbe, aussi bien dans le cas de la pancréatine que dans celui de la subéripsine. Il serait imprudent de vouloir toujours expliquer par l'action ultérieure d'une diastase entraînée les digestions de fibrine qui se font dans l'eau : une fois que cet albuminoïde, à molécules somme toute assez fragiles, a subi un commencement d'attaque dans des liquides diastasifères, il devient certainement beaucoup plus sensible aux agents extérieurs autres que les ferments. Aussi je n'hésite pas à sacrifier toute la partie gauche de la courbe, qui doit vraisemblablement représenter des phénomènes de digestion dus à l'acide sulfurique employé.

L'intensité plus marquée des digestions en milieu alcalin, rapprochée de ce fait que le carbonate de soude

paraissait moins actif que l'acide sulfurique à l'égard de la fibrine non impressionnée, permettent d'attribuer plutôt à une action fermentaire toute la partie droite de la courbe. La subéripsine serait donc, d'après cette explication, un ferment basophile.

Elle ne peut être assimilée entièrement à la trypsine, car elle ne produit ni tyrosine, ni leucine ; on sait que le propre des digestions tryptiques est de dépasser le terme des peptones et d'arriver aux acides amidés. Des examens microscopiques, répétés à plusieurs reprises, ne m'ont jamais montré de houppes de tyrosine : la réaction de Piria a été négative également. Quant à la leucine, elle a été cherchée en évaporant au bain-marie les liquides examinés : il n'y a pas eu non plus, par le refroidissement, apparition des cristaux caractéristiques.

Pour expliquer les résultats des essais de digestion dans le suc normal, on peut admettre que la substance empêchante, renfermée dans le suc, est basophile comme la subéripsine, mais plus strictement basophile. On comprendrait ainsi pourquoi l'action diastasique, déjà bien faible en milieu acide, l'est encore davantage quand on ajoute du carbonate de soude.

En mettant dans de l'eau distillée alcalinisée des flocons de fibrine ayant séjourné préalablement dans du suc de *Suberites* chauffé à diverses températures, on ne constate pas de différence, au point de vue de la digestion, entre la fibrine qui a été immergée dans du suc chauffé à 37° et à 50° et celle qui a passé par le suc normal ; celle qui a séjourné dans le suc chauffé à 60° se dissout moins bien ; les autres pas du tout, sauf peut-être celle qui a été mise

dans le suc chauffé à 70°. C'est donc aux environs de 70° que se trouve la température mortelle pour la subéripsine.

Nous avons vu que la protéase est basophile, elle aussi ; il y aurait lieu de se demander si ces deux diastases sont réellement différentes l'une de l'autre. Nous ne les avons encore distinguées que par les substances qu'elles peptonisent ; toutes les deux se manifestent d'abord comme des décoagulases, agissant, l'une sur la gélatine, l'autre sur la fibrine. L'action hydrolysante ultérieure paraît cependant plus énergique pour la protéase, car elle conduit jusqu'aux acides amidés. Notons toutefois que cette différence tient peut-être à une plus grande fragilité des molécules de la gélatine, aussi n'est-il pas absolument certain que la protéase et la subéripsine ne soient pas un seul et même ferment.

Présure

Les expériences de Lendenfeld (80) nous ont appris que les éponges semblent assimiler le lait avec assez de facilité et s'en accommoder aisément comme nourriture, exception faite pour les Chondrosiées. Les cellules à collerette s'emparent des corpuscules gras du lait et ceux-ci, de plus en plus petits et plus nombreux, sont cédés ensuite aux phagocytes. Cette absorption rapide, l'absence de contraction des pores inhalants chez les éponges que l'on nourrit ainsi, permettent de croire que les substances albuminoïdes du lait sont digérées par l'animal au même

titre que ses graisses. Il pouvait être intéressant de constater si la caséine, avant d'être digérée, doit passer par une phase de coagulation comme dans l'estomac des animaux supérieurs.

Le suc de *Suberites* joue le rôle d'une véritable présure ; ajouté au lait, il en provoque la coagulation, alors que le suc bouilli se montre dépourvu de toute action. De même que pour les présures déjà connues l'addition d'un acide, même en faible quantité, hâte l'apparition du caillot et le fait ensuite se rétracter avec une plus grande rapidité. Je n'ai pas trouvé de dose optima dans l'action des acides ; dans une série d'essais, où la quantité d'acide sulfurique a été portée progressivement à 753 mgr par litre, le maximum d'action a régulièrement correspondu au maximum d'acidité. A cette dose, l'acide sulfurique commence à agir pour son compte et à provoquer lui-même la coagulation de la caséine ; il est donc inutile de poursuivre l'expérience et d'en augmenter encore la proportion. Les alcalis, au contraire, gênent l'action de la diastase ; à la dose de 340 mgr. par litre le carbonate de soude a décuplé le temps nécessaire à la coagulation de 10 c. c. de lait, additionnés de 2 c. c. de suc de *Suberites* neutre ; mais la coagulation s'est faite cependant. Dans ce cas encore, l'action de l'alcali se montre régulièrement retardante, à mesure que la dose de carbonate de soude augmente, sans qu'il paraisse y avoir d'irrégularité dans la courbe représentant le phénomène.

Comme pour les présures animales, les sels de calcium ont une action adjuvante très nette. Du chlorure de calcium a été ajouté, à la dose de 400 mgr par litre

(X gouttes d'une solution à 1 0/0) à 10 cc. de lait additionnés de 2 cc. de suc de Suberites ancien, à pouvoir très affaibli ; des tubes témoins recevaient, à la place de la solution calcique, X gouttes d'eau chloroformée. Après 16 heures le lait additionné de sels de chaux commence à se coaguler ; l'autre, après 24 heures, semble également subir le même phénomène, qui devient très net quelques heures plus tard. En outre le coagulum est plus dur et plus rétracté dans les tubes qui ont reçu du chlorure de calcium. L'addition de sel calcique, à la même dose, à du lait pur ou mélangé de suc bouilli n'a déterminé, même après douze jours, aucun changement dans le liquide ; ce qui prouve que le chlorure de calcium montre une action adjuvante à des doses où il ne peut, par lui-même, effectuer le même travail. C'est d'ailleurs ainsi qu'il faut comprendre les actions adjuvantes.

En essayant, au point de vue de leur énergie, les suc de Suberites chauffés à diverses températures, on constate que le suc chauffé à 70°, dans l'expérience précédente, produit la coagulation du lait avec environ 16 heures de retard ; chauffé à des températures plus élevées, il perd tout pouvoir coagulant.

Nous pouvons nous demander quelle est l'utilité pour l'animal d'un ferment de ce genre. Nous sommes en présence d'une coagulase, qui n'a été caractérisée que par son action sur la caséine du lait. Il n'est pas impossible que les éponges, dans leur alimentation, aient à utiliser des caséines ou des albuminoïdes analogues, d'origine inconnue ; mais il est probable que la présure a un autre

rôle dans le Suberites. L'animal a certainement besoin de coagulases pour solidifier les albuminoïdes qui entrent dans la constitution de ses tissus ou de ses substances de réserve ; aurions-nous décelé, en nous servant de la caséine comme d'un réactif chimique, la diastase chargée de ce rôle chez le Spongiaire ?

Caséase.

Le caillot de caséine, qui provient de l'action de la diastase précédente, ne tarde pas à subir une dissolution ultérieure. La liqueur limpide ainsi obtenue (sauf au fond du tube un dépôt constant de nucléines) ne précipite plus par l'acide acétique ; elle donne la réaction du biuret et, évaporée au bain-marie, ne laisse voir à froid aucune cristallisation caractéristique : ni leucine, ni tyrosine.

Le ferment qui produit cette digestion paraîtrait plus fragile que le précédent, si l'on en juge par les deux observations ci-dessous.

Le suc chauffé à 70°, qui conserve encore un pouvoir coagulant certain, bien qu'affaibli, ne fait plus subir de digestion au caillot formé : la caséase serait donc détruite entre 60 et 70°. Dans l'expérience du bas de la page 100, les caillots n'ont subi qu'une très faible digestion ultérieure, même après deux mois de contact ; voici sans doute l'explication de ce phénomène. Le suc employé dans cette expérience était à pouvoir diastasique affaibli ; il provenait d'un flacon resté en vidange pendant deux mois, ayant fourni les éléments de nombreuses expé-

riences et qui, malgré les précautions prises, avait subi les effets nuisibles de l'éclairement, de l'aération, etc. La caséase y avait presque entièrement disparu.

C'est en considération de ces deux faits que j'ai attribué une plus grande fragilité à ce ferment. On pourrait, il est vrai, soutenir que présure et caséase ne font qu'un, et qu'une présure altérée, encore capable d'agir comme coagulase (déterminant de simples modifications d'état physique), peut ne plus agir comme ferment hydrolysant (déterminant des transformations moléculaires). J'hésite beaucoup, pour mon compte, à voir dans la présure un ferment digestif, et je rapprocherais volontiers la caséase de la subéripsine et de la protéase, sauf à l'éloigner de ces deux diastases après vérification de ses préférences acidophiles ou basophiles.

On trouvera peut-être que j'ai été trop timide dans les rapprochements de ce genre, et que quelques diastases auraient pu être réunies sous des rubriques communes. Je me suis conformé aux idées qu'enseignent actuellement la plupart des Maîtres de la chimie biologique. Il est très possible cependant qu'il se produise plus tard une réaction contre notre tendance à multiplier les diastases, à démembrer à l'extrême les actions fermentaires. Cette réaction s'est même déjà dessinée, et en opposition avec les idées de Fisher, qui admet volontiers l'existence d'une série de sucrases ayant chacune une formule stéréochimique différente, je trouve cette phrase suggestive d'Arthus (135): « Nous proposons de considérer les enzymes, non comme des substances matérielles, mais comme des propriétés de substances matérielles. »

CONCLUSIONS

Le *Suberites domuncula*, qui vit normalement en symbiose avec des Pagures, n'acquiert son développement complet que lorsqu'il a pu se fixer sur une coquille de Gastéropode habitée par un de ces Crustacés.

L'analyse chimique permet de déceler dans son corps la présence d'une grande quantité de silice; le brome s'y trouve également en assez forte proportion, l'iode n'y existe guère qu'à l'état de traces. Il n'a été trouvé ni arsenic, ni fer; par contre, il a été possible de reconnaître dans les cendres de l'animal la présence d'une très faible quantité de manganèse. Ce dernier métal est accumulé dans les gemmules de l'éponge, qui le renferment en abondance.

La recherche de la mucine, de l'acide urique, d'une huile essentielle, des graisses et du glycogène, effectuée sur l'ensemble des tissus de l'animal, a été absolument négative. L'amidon s'y rencontre, mais d'une façon inconstante. Il est nécessaire, pour le déceler, d'employer avec les plus grandes précautions l'eau iodée, qui a la propriété de bleuir le pigment du Spongiaire.

Le *Suberites* renferme une assez forte proportion d'une matière pigmentaire rouge orangé, reconnue par Kru-

kenberg comme étant une variété de tétronérythrine. Ce pigment, qui paraît identique avec le principe colorant du Pagure, se trouve à l'état de corpuscules arrondis, dans l'intérieur des cellules mésodermiques du Spongiaire. Il peut devenir bleu à la surface du Suberites, sous l'influence de causes inconnues, et donner à l'éponge une coloration violacée ou bleuâtre. Il appartient à l'animal lui-même, et ne lui est fourni ni par des algues, ni par des bactéries. La répartition du pigment (surface de l'éponge, canal spiral, quelques canaux exhalants) ne nous permet pas de nous former une opinion précise sur son utilité physiologique.

L'étude des enzymes, faite sur le suc obtenu par expression, m'a montré des actions diastasiques que l'on peut rapporter aux ferments suivants :

1° Une oxydase possible (par contre la présence d'un ferment réducteur me paraît improbable).

2° Une amylase acidophile.

3° Une sucrase acidophile, détruite par un chauffage d'une heure à une température un peu supérieure à 80°.

4° Une lipase, détruite par le chauffage entre 70 et 80°.

5° Une protéase basophile, pour laquelle la température mortelle est située entre 70 et 80°.

6° Un ferment hydrolysant les albuminoïdes, que j'ai provisoirement appelé subéripsine ; il paraît basophile et est détruit par le chauffage aux environs de 70°.

7° Une présure acidophile et calciphile, qui supporte le chauffage à 70°, mais ne résiste pas aux températures supérieures.

8° Une caséase, pour laquelle la température mortelle est comprise entre 60 et 70°.

Les recherches dont les résultats sont consignés ci-dessus, poursuivies après la rédaction de la note que j'ai envoyée sur ce sujet à la Société de Biologie, me permettent d'en confirmer absolument les points essentiels. J'hésitais alors cependant à rapporter toutes les diastases observées au *Suberites* lui-même, et non à ses commensaux; l'amylase et la sucrase, notamment, me paraissaient pouvoir être attribuées à des algues (*Zooxanthelles* de Brandt) citées par *Celesia* comme vivant en symbiose avec l'éponge. Les recherches que j'ai entreprises depuis au sujet de l'origine du pigment de l'animal m'ont permis de me faire une opinion plus précise sur cette question, et je n'hésite pas maintenant à regarder ces ferments comme des produits d'excrétion du Spongiaire. Dans mes dissociations ou mes coupes, je n'ai rencontré que très exceptionnellement des cellules dont l'origine végétale parût possible; quant aux parasites animaux, ils m'ont semblé ne constituer que des causes d'erreur tout aussi négligeables.

NOTE ADDITIONNELLE

Le *Cydonium gigas* et la *Tethya Lyncurium*, deux Spongiaires communs dans les fonds marins au large de Marseille, ont été également examinés au point de vue de leurs diastases, d'après les méthodes qui ont servi pour le *Sub. domuncula*. L'étude qui a été faite au sujet de ce dernier animal permettra d'être assez bref en ce qui concerne les deux autres espèces.

Cydonium gigas.

Un exemplaire volumineux, fourni vivant par le Laboratoire de Zoologie Maritime d'Endoume, est divisé à la machine ; l'animal présente une consistance bien moins ferme que le *Suberites*. Le suc est exprimé et conservé en présence de chloroforme ; il est obtenu en très grande abondance. Les actions diastasiques seront moins énergiques qu'avec le Spongiaire précédemment étudié, comme si le suc avait été dédoublé avec de l'eau.

Les doigts qui ont manipulé la pulpe de *Cydonium* gardent pendant plusieurs jours une couleur noirâtre. Le suc, naturellement, brunit très rapidement lui aussi, et prend une teinte tirant sur un violet moins rouge que dans le cas du *Suberites*.

La pulpe fraîche, aussi bien que le suc, ne colorent pas une teinture chlôroformique récente de gaïac, ne brunissent pas les solutions de résorcine et d'hydroquinone ; le pyrogallol ne commence à noircir qu'assez lentement à leur contact. Le suc colore lentement et faiblement la pyrocatéchine.

Il n'y a pas de réduction du nitrate de potasse. L'arséniate de soude est réduit par le suc normal ou bouilli (celui-ci obtenu avec les mêmes précautions que pour le Suberites); le bleu de méthylène est décoloré très lentement et seulement dans la partie inférieure du tube à essai, le suc chauffé est sans action sur lui. Comme on le voit, la présence d'une oxydase et d'une réductase n'est pas mieux confirmée par les expériences que pour le Suberites.

Ici encore l'amidon est transformé en glucose, le saccharose est interverti. Mais ces actions sont bien moins marquées que pour le Suberites. Dans une expérience conduite en même temps que celle de la page 75 et avec les mêmes doses d'acide et de suc, il n'y a eu formation que de 0. gr. 0168 de sucre interverti; le suc bouilli est resté entièrement inactif.

La monobutyryne de la glycérine est saponifiée par le suc normal : à doses égales de liquides diastasifères, l'action est moins énergique qu'avec le Suberites.

Que la liqueur soit alcaline, neutre ou acide, il n'y a pas de liquéfaction de la gélatine. On constate au contraire que le niveau de la gélatine s'est élevé dans le tube ; cette substance a en quelque sorte absorbé une partie du liquide, et sa partie supérieure a pris la couleur vio-

lette du suc de Cydonium oxydé, qui s'est diffusé dans son intérieur.

Le Cydonium renferme aussi un ferment analogue à la subéripsine. Ici encore la fibrine et l'albumine sont très peu attaquées par le suc, elles le sont peut-être de préférence en milieu acide ; la fibrine ainsi impressionnée prend la faculté de se dissoudre ultérieurement dans l'eau. Des flocons de cet albuminoïde, après avoir séjourné pendant trois jours dans le suc de Cydonium, sont plongés après un lavage abondant dans 10 cc. d'eau distillée, recouverte d'une couche d'éther et additionnée des mêmes doses d'acide ou d'alcali que dans l'expérience de la page 92.

Après trois jours de contact, la réaction du biuret, à peine sensible pour F, est de plus en plus intense, à mesure que la dose d'acide ou d'alcali est plus forte. Dans cette expérience les tubes acides, dans leur ensemble, semblaient avoir une coloration plus marquée que les tubes alcalins ; dans une autre, les tubes alcalins semblaient avoir une peptonisation plus active que les tubes acides ; questions de nuances, sur lesquelles il est difficile de se prononcer. Au total ces chiffres donneraient une courbe qui, d'une façon générale, reproduirait assez bien celle de la subéripsine. Cependant remarquons une fois de plus que le suc est moins actif que celui du Suberites ; la partie de la courbe représentant la digestion dans les tubes alcalins serait constituée par une ligne à ascension moins rapide.

Le lait n'est pas coagulé par le suc de Cydonium.

Tethya Lyncurium.

Cinq individus vivants, fournis par le Laboratoire d'Endoume, sont divisés au scalpel en menus fragments. La plus grande partie en est mise dans un flacon avec du chloroforme et recouverte de glycérine, puis exprimée à la presse après quinze jours de macération.

Les autres, examinés au point de vue des oxydases, se montrent dépourvus de toute action sur la teinture chloroformique de gaïac, sur la résorcine et l'hydroquinone et colorent lentement le pyrogallol. L'extrait glycéринé se montre plus actif à l'égard de ce dernier corps, colore peu et lentement l'hydroquinone et oxyde assez rapidement la pyrocatéchine.

J'avais signalé ce Spongiaire (7) comme ne renfermant pas d'amylase ni de sucrase ; j'ai reconnu depuis que l'extrait glycéринé, incapable d'hydrolyser l'amidon cru, n'est pas absolument sans action sur l'amidon cuit. Mais comme il n'a pas été fait de contre-expérience avec du même extrait chauffé à 100°, je n'essaierai pas de poser de conclusion.

La Tethya ne paraît pas renfermer de lipase ; elle contient une protéase basophile, qui s'accommode assez d'un certain degré d'acidité.

Outre une présure assez faible qui ne paraît pas s'accompagner de caséase (après douze jours le coagulum formé ne semblait pas avoir la moindre tendance à se redissoudre), il existe un ferment capable d'attaquer la fibrine et l'albumine.

Dans l'extrait lui-même l'action est peu énergique et semble indifférente à l'état alcalin ou acide du milieu. En mettant dans l'eau, après lavage, la fibrine impressionnée, cette attaque ultérieure paraîtrait plutôt acidophile (?)

Le tableau ci-dessous résume l'ensemble de ces résultats :

	Suberites domuncula	Cydonium gigas	Tethya Lyncurium
Oxydase.....	?	?	?
Réductase...	? ?	? ?	? ?
Amylase	+	+	? ?
Sucrase.....	+	+	0
Lipase.....	+	+	0
Protéase....	+	0	+
Subéripsine.	+	Ou analogue	Ou analogue
Présure.....	+	0	+
Caséase.....	+	0	0

Vu : le Président de thèse
CH. RICHET

Vu : le Doyen,
BROUARDEL

Vu et permis d'imprimer,
Le Vice-recteur de l'Académie de Paris,
GRÉARD

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

Suberites domuncula.

1. ALDROVANDI ULYSSE. — De reliquis animalibus exanguibus, etc.; t. V. de Zoophytis sive plantanimilibus. Bononice, 1608.
2. AURIVILLIUS CARL W. S. — Ueber Symbiose als Grundaccessorischer Bildungen bei marinen Gastropodenhäusen. *Svenska Akad. Handl. Stockholm*, t. XXIV, n° 9.
3. BERTOLINI A. — Rariorum Italiae plantarum decas tertia III. Portus Lunæ-Pisæ, 1810.
4. BREHM A. E. — La vita degli animali (traduction italienne, t. VI. Turin, 1873)
5. CARTER H. J. — On the presence of Starch-granules in the Ovum of the marine Sponges, and on the Ovigerous layer of Sub. domuncula. *Ann. Mag. N. H.*, (5) t. XII.
6. CELESIA PAOLO. — Della Sub. domuncula e della sua simbiosi coi Paguri. *Atti della Società Ligustica Sc. N. Genova*, t. IV.— *Boll. Mus. Z. Anat. Comp. Genova*, N° 14.
7. COTTE JULES. — Note sur les diastases du Sub. domuncula. *C. R. Soc. Biol.* 1^{er} février 1901.

8. CUËNOT. — Les moyens de défense dans la série animale. Paris, 1892.
9. — Les moyens de défense chez les animaux. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, t. XXIII.
10. DUJARDIN. — 2^e Edition des Animaux sans vertèbres de Lamarck, t. II. Paris, 1836.
11. ESPER. — Die Pflanzenthier. Nürnberg, 1797.
12. GOURRET PAUL. — Révision des Crustacés Podophthalmes du Golfe de Marseille. *Ann. Mus. Hist. Nat. Mars. (Zool)*, t. III.
- 13 GRAEFFE E. — Uebersicht der Seethierfauna des Golfes von Triest. II. Cœlenteraten : Spongiariæ. *Arbeit. Zool. Inst.*, IV. Wien, 1882.
14. GRAY J.-E. — Notes on the arrangement of Sponges, with the descriptions of some new genera. *Proc. Zool. Soc. London*, 1867.
15. JONSTON. — De exanguibus, t. IV, ch. III, Francfort, 1756.
- KRUKENBERG. — (Voir : Chimie biologique).
16. LAMARCK JEAN. — Mémoires du Muséum de Paris, 1814.
17. VON LENDENFELD. — Descriptive catalogue of the Sponges in the Australian Museum Sydney. London, 1888.
18. — Die Clavulina der Adria. *Acta Ac. German.*, t. LXIX, 1897.
19. LIEBERKUHN N. — Neue Beiträge zur Anatomie der Spongien. *Müller's Archiv. f. Anat.* Leipzig, 1859.
20. MARION A.-F. — Esquisse d'une topographie zoologique du Golfe de Marseille. *Ann. Mus. Hist. Nat. Mars.*, t. I, 1883.

21. — Considérations sur les faunes profondes de la Méditerranée. *Ibid.*. 2^e mémoire.
22. DES MOULINS Ch. — Questions obscures relatives à l'*Hydractinia echinata* Flem. et l'*Alcyonium domuncula* Lamarck, tous les deux logeurs de Pagures. *Actes de la Soc. Linn. de Bordeaux*, t. XXVIII, 1872.
23. NARDO G.-D. — Ueber die Spongien und nächst verwandten Thiergattungen. *Ists*, 1883, 1834.
24. OLIVI GIUSEPPE. — Zoologia Adriatica, ossia catalogo ragionato degli animali del golfo adriatico. Bassano, 1792.
25. RENIER STEF. ANDR. — Tavole per servire alla classificazione degli animali. Venise, 1807.
26. — Note au congrès des naturalistes tenu à l'Académie des Sciences, Lettres et Arts de Padoue en 1809 (publiée en 1847).
27. SCHMIDT O. — Die Spongien des adriatischen Meeres. Leipzig, 1862.
28. — Die Spongien der Küste von Algier, mit Nachträgen zu der Spongien des adriatischen Meeres. Leipzig, 1868.
29. — Grundzüge einer Spongien-Fauna des atlantischen Gebietes. Leipzig, 1870.
30. — Spongien der Nordsee. Expedition 1872. *Jahresb. d. Commiss. zur wiss. Untersuch. der deutsch. Meere in Kiel für die Jahre. 1872-73*. Berlin, 1875,
31. THIELE J. — Studien über pacifische Spongien. *Orig.*

Abhandl. aus dem Gesamtgebiete der Zoologia. Heft 24. Stuttgart, 1898.

32. THOMSON J. ARTH. — On the structure of Sub. domuncula. *Trans. R. Soc. Edimburgh*, t. XXXIII, 1887.
33. TOPSENT. — Contribution à l'étude des Clionides. *Arch. Zool. Exp.* (2), t. V bis, 1887 (bibliographie assez complète de la perforation par les Clionides). — —
34. — Note sur les gemmules de quelques Silicisponges marines. *C. R. Ac. Sc.*, t. CVI, 1888.
35. — Voyage de la goëlette « Melita » aux Canaries et au Sénégal (1889-90). Spongiaires, *Mém. Soc. Zool. Fr.*, t. IV, 1891.
36. — Etude monographique des Spongiaires de France, III. Manaxonida. *Arch. Zool. expér.* (3), t. VIII, 1900.
37. VAN BENEDEN J. R. — *Bull. Acad. R. Sc. Belgique* (2) t. XXXIII, n° 12, 1869.
38. — Les Commensaux et les Parasites dans le règne animal.
39. VOSMAER G.-C.-J. — Spongien. *Bronn's Klass. u. Ordn. d. Thierreichs*, t. II, 1887.

Spongiaires.

40. BALFOUR. — Traité d'embryologie et d'organogénie comparée, t. I, 1883.
41. BEYERINCK M. — Culturversuche mit Zoochlorellen, Lichenengonidien u. anderen niederen Algen. *Bot. Zeit.*, 48 Jahrg.

42. BIDDER GEORGE. — Preliminary note on the Physiology of Sponges. *Proc. Phil. Soc. Cambridge*, t. VI.
43. — Note the excretion in Sponges. *Proc. Roy. Soc. London*, t. LI, 1892.
44. — On the Flash-shaped Ectoderm and Spongioblasts in one the Keratosa. *Ibid.*, t. LII, 1853.
45. — The collarcells of Heterocœla. *Quart. Journ. Micr. Soc.*, t. XXXVIII, 1895.
46. — The Skelcton and classification of calcareous Sponges. *P. R. Soc. London*, t. LXIV.— In. *J. R. Micr. Soc.*, 1898.
47. BOWERBANK J. S. — A monograph on the british. Spongiadæ, 1864.
48. BRANDT K. — Ueber das Zusammenleben von Thieren und Algen. *Verhandl. Physiol. Gesellsch. Berlin*, n° 5, 1881.
49. — Ueber die morphologische und physiologische Bedeutung des Chlorophylls bei Thieren (2 articles). *Mitth. Z. Stat. Neapel*, t. IV.
50. — CARTER H. J. — On the ultimate structure of Spongiilla. *Ann. and Magaz. of Nat. Hist.*, t. VIII, 1871.
51. — Spermatozoa, Polygonal Cell-structure, and the green Colour in. Spongiilla, etc. *Ibid.*, t. X.
52. DELAGE Y. — Embryologie des Eponges. *Arch. zool. Exp.*, (2), t. X, 1892.
53. DELAGE Y. ET HÉROUARD. — Traité de Zoologie concrète ; t. II, 1^{re} partie.

54. DENDY ARTH. — Studies on the comparative anatomy of Sponges. *Qu. Journ. Micr., Soc.*, (2), t. XXXV.
55. DODERLEIN L. — Studien an japanischen Lithistiden. *Zeit. wiss. Zool.*, t. XXXIV.
56. DREYER F. — Die Principien der Gerüstbildung bei Rhizopoden, Spongien u. Echinodermen. *Jenaische Zeitschr. f. Naturw.*, t. XXVI, 1892.
57. DUJARDIN. F. — Observations sur les Eponges et en particulier sur la Spongille ou éponge d'eau douce. *Ann. Sc. Nat.* (2), t. X, 1838.
58. DUNCAN. E. — On a Radiolarian and some Mircospongida from considerable depths in the Atlantic Ocean. *Journ. Roy Micr. Soc.*, (2), t. I, 1881.
59. — On some remarkable enlargements of the axial canals of Sponge Spicules and their causes. *Ibid.*, t. I.
60. — On a parasitic Sponge of the Order Calcarea. *Ibid.*, t. III.
61. — On an organism which penetrates and excavates Silicioussponge-spicula (Spongiophagus Carteri). *Ann. Mag. Nat. Hist.* (5), t. VIII, 1881.
62. — On a Lithistide Sponge and on a form of Aphrocallistes, etc. *Journ. Linn Soc. Zool.*, t. XV.
63. VON EBNER V. — Ueber den feineren Bau der Skeletteile der Kalkschwämme nebst Bemerkungen über Kalkskelete überhaupt. *Sitz. Ber. Akad. Wien.*, t. VC.

64. FAMINTZIN A. — Beitrag zur Symbiose von Algen und Thieren. *Mém. Acad. Pétersbourg* (7), t. XXXVIII, n° 1, 1891.
65. FIEDLER KARL. — Ueber Ei- und Samenbildung bei *Spongilla fluviatilis*. *Zeit. wiss. Zool.*, t. XXXXVII.
66. GRANT. — Observations and experiments on the structure and the functions of the Sponges. *Edinburgh N. Philosoph. Journ.*, ann. 1825 et 26. passim. — In : *Ann. Sc. Nat.*, t. XI, 1827
67. HÆCKEL ERNST. — Die Kalkschwämme, 1872.
68. HEIDER KARL. — Zur Metamorphose der *Oscarella lobularis*. *Arbeit. Zool. Inst. Wien.*, 1886.
69. HUNDESHAGEN. — Ueber jodhaltige Spongien und Iodospongin. *Zeit. angew. Chem.*, 1895.
70. KELLER. — Die Spongienfauna des Rothen Meeres. *Zeit. wiss. Zool.*, t. LII.
71. — Das Spongin und seine mechanische Leistung in Spongien-organismus. *Fetschr. Univ. Zürich Nägeli u. Kölliker*, 1890-91.
72. LANKESTER E. RAY. — On the chlorophyll-corpuscles and amyloid Desposits of *Spongilla* and *Hydra*. *Quart. Journ. Micr. Soc.*, t. XXII. — In : *Nature*, t. XXVI.
73. — Dredging in the Norwegian Fjords. *Nature*, t. XXVI.
74. LAURENT. — Nouvelles recherches sur la Spongille. Voyage autour du monde sur la Bonite (Zoo-phytologie), 1844.

75. VON LENDENFELD R. — Ueber Cœlenteraten der Südsee,
2 Mitth. Neue Aplysiniidæ. *Zeit. wiss. Zool.*
t. XXXVIII.
76. — The digestion of Sponges effected by Ectoderm
or Entoderm? *Proc. Linn. Soc. N. S. Wales*,
t. IX.
77. — Studies on the sponges, I-IV. *Ibid.*, t. X, 1885.
78. — Fortschritt unsrer Kenntniss der Spongien, III.
Zool. Jahrbuch., t. V.
79. — Experimentelle Untersuchungen über die Phy-
siologie der Spongien. *Zeitschr. f. wiss. Zool.*,
t. XLVII, 1889.
80. — Id. in *Biologisches Centralblatt*, 1890.
81. — Der Thierstam der Spongien. *Zool. Gatt.*, t.
XXXVIII.
82. — Neuere Arbeiten über Spongien. *Zool. Cen-
tralbl.*, t. VI.
83. — Spongien von Sansibar (Vœltzkow, wissens-
chaftliche Ergebnisse der Reisen in Mada-
gaskar u. Ostafrika). *Abl. Senckenb. Ges.*, t.
XXI, 1897.
84. LEVINSEN G. M. R. — Porifera, *Vid. Udbytte Hauchs
Togter Kjøbenhavn.*
85. LIEBERKUHN N. — Beiträge zur Anatomie der Spon-
gien. *Müller's Arch. f. Anat. u. Phys.*, 1857.
86. LOISEL G. — Contribution à la Physiologie et à l'histo-
logie des Eponges. *C. R. Soc. Biol.* (10) t.
IV, 1897.
87. — Contribution à l'histo-physiologie des Eponges.
Ibid., (10) t. V, 1898.

88. — Contribution à l'histo-physiologie des Eponges.
Journ. de l'anat. et de la physiol., n° 1,
1898. — In: *Arch. Zool. Exp.*, 1898 (Top-
sent).
89. MAC MUNN. — Further observations on Enterochloro-
phyll and allied pigments. *Proc. R. Soc.*
London, t. XXXVIII.
90. — On the chromatology of some british sponges.
Journ. Phys. Cambridge, t. IX, 1888.
91. MARCHAL. — L'acide urique chez les Invertébrés. *Mém.*
Soc. Zool., 1889.
92. MASTERMANN A. E. — On the nutritive and excre-
tory Processes in Porifera. *Ann. Mag. N. H.*
(6) t. XIII, 1894; t. XIV, 1895.
93. — On some points in the general morphology of
the Metazoa. *Zool. Anzeiger*, t. XIX, 1896.
94. DE MÉRÉJKOVSKY. — Etudes sur les Eponges de la
Mer Blanche. *Mém. Acad. Sc. Pétersbourg*
(7) t. XXVI, 1878.
95. METCHNIKOFF E. — *Zool. Anzeiger*, t. I, 1878.
96. — Spongiologische Studien. *Zeit. wiss. Zool.*, t.
XXXII, 1879.
97. — Zur Lehre über die intracelluläre Verdauung
niederer Thiere. *Zool. Anz.* V. Jahrg.
98. — *Arbeit. des Zool. Instit. in Wien*, t. V.
99. — Leçons sur la pathogénie comparée de l'inflam-
mation. Paris, Masson, 1882.
100. MEUNIER S. — Observat. complément. sur le Spongi-
liomorpha Saportai. *Naturaliste*, t. XIX,
1897.

101. MINCHIN E. A. — Note on the Larva and the Postlarval Development of *Leucosolenia variabilis*, etc. *Proc. Roy. Soc. London*, t. LX, 1896.
102. — Materials for a monograph of the Ascohs. *Quart. Journ. Micr. Soc.*, t. XL, 1898.
103. MURRAY JOHN ET ROBERT IRVINE. — On Silica and the Silicious Remains of Organisms in Modern Seas. *Proc. Roy. Soc. Edimburgh*, t. XVIII.
104. PAGENSTECHER H. ALEX. — Allgemeine Zoologie, t. II, Berlin, 1877.
105. RIDLEY. — Notes on Sponges, with descriptions of a new Species. *Ann. Mag. N. H.* (5) t. XIV.
106. SCHNEIDER ROB. — Ueber Eisen-Resorption in thierischen Organen und Geweben. *Abh. Akad. Berlin*, 1888.
107. SCHULZE F. E. — Untersuchungen über den Bau u. die Entwicklung der Spongien. Die Familie der Chondrosiden. *Zeitschr. f. wiss. Zool.*, t. XXIX, 1877.
108. — Id. Die Familie der Aplysiniden. *Ibid.*, t. XXX, 1878.
109. — Id. Die Gattung Spongelia. *Ibid.*, t. XXXII, 1879.
110. SIMROTH HEINR. — Die Entstehung der Landthiere. Ein biologisch Versuch. Leipzig, 1893.
- 110 bis. — Ueber die Nahrung der Landthiere. *Verh. d. z. Ges.*, 1 vers
111. — SOLGER B. — Ueber einige der anatomischen Untersuchungen zugängliche Lebenserschei-

nungen der Spongien. *Biol. Centralbl.*, t. III, 1883-84.

112. SOLLAS W. J. — *Quart. Journ. Geol. Soc.*, t. XXXIII, 1877.
113. — *Ann. Mag. Nat. Hist.* (5) t. IV, 1879.
114. — *Proc. Roy. Irish Acad.* (2) t. IV, 1885.
115. — On the physical characters of calcareous and siliceous Sponge-spicules and other structures. *Proc. Roy. Soc. Dubl.*, t. IV, 1885.
116. — Report on the Tetractinellida collected by H. M. S. Challenger, in *Challenger Rep.*, t. XXV.
117. SPANGENBERG G. — Zusammenvorkommen von Kalkschwamm u. Lithistide. *Tagbl. Ges. Deutsch. Naturf.*, t. LXIX.
118. TOPSENT E. — Contribution à l'étude des Spongiaires. *C. R. Ac. Sc.*, t. CXVII, 1893.
119. — Essai sur la faune des Spongiaires de Roscoff. *Arch. Zool. Exp.*, (2) t. IX, 1893.
120. — Nouvelle série de diagnoses d'éponges de Roscoff et de Banyuls. *Arch. Zool. Exp.* (3), t. I.
121. — Etude monographique des Spongiaires de France. *Arch. Zool. Expér.*, passim.
122. — Notes histologiques au sujet du *Leucosolenia coriacea*. *Bull. Soc. Zool. de Fr.*, t. XVII.
123. VOSMAER G. C. J. — *Leucandra aspera* u. das Kanalsystem der Spongien. *Biolog. Centralbl.*, 1882-83 ; d'après *Tijdschrift der Nederl. Dierk. Vereeniging*, t. V.

124. — Studies on sponges II-IV. *Mitth. z. Stat. Neapel*, t. V.
125. — Verslag van de werkzaamheden door den ondergeteskende aan de Nederlandsche werktafel in het Zoologische station te Napels verricht. *Nederl. Staats-courant*, 1888-89.
126. — Neue Arbeiten über Schwämme. *Biol. Centralbt.*, t. IX.
127. — Over het opnemen van voedsel bij sponsen. *Verh. Ak. Amsterdam*, 1898.
128. VOSMAER ET C. A. PEKELHARING. — Ueber die Nahrungsaufnahme bei Schwämmen. *Arch. f. Physiol.*, Leipzig, 1898.
129. — — Observations on Sponges. *Verh. Akad. Amsterdam*, (2) t. VI.
130. WEBER M. ET A. WEBER-VAN-BOSSE. — Quelques nouveaux cas de symbiose. *Z. Ergebn. Reise Nederl. Ost-Indien Leiden*.
131. WELTNER W. — Der Bau des Süßwasserschwammes. *Blatt. Aquar.Fr.*, t. VII.
132. — Spongillidenstudien, n° 2. *Arch. Naturg.* LIX Jahrg.

Chimie biologique.

133. ABELOUS J. ET G. BIARNÈS. — Sur l'existence d'une oxydase chez les Mammifères. *C. R. Soc. Biol.*, 1897.
134. ABELOUS J. E. ET E. GÉRARD. — Sur la présence dans l'organisme animal d'un ferment réduisant les nitrates. *J. Ph. Ch.* 1898-2.

135. ARTHUS. — Nature des enzymes. Paris, 1896.
136. BOKORNY TH. — Physiologisches u. Chemisches über die Peptonbildung aus Eiweiss. *Biolog. Centralbl.*, 1900.
137. DUCLAUX. — Traité de microbiologie, t. II, Paris, 1899.
138. FRÉDÉRICQ L. — La digestion des matières albuminoïdes chez quelques invertébrés. *Arch. Zool. Exp.*, t. VII, 1878.
- 139 GAUTIER A. — L'iode dans l'eau de mer. *Journ. Ph. Ch.*, 1899-2.
140. GEDDES. — On the nature and fonctions of the « Yellow-Cells » of Radiolarians and Cœlenterates. *Proc. R. Soc. Edimburgh.*
141. GRIFFITHS A. B. — The physiology of the Invertebrata. London, 1892.
142. HANRIOT. — Lipase dans le sang. *C. R. Ac. Sc.*, t. CXXIII.
143. HARNACK E. — Ueber das Iodospongin, die iodhaltige eiweiss-artige Substanz aus dem Badeschwamm. *Zeitschr. f. phys. Chem.*, t. XXIV, 1898.
144. KRUKENBERG. C. FR. W. — Vergl. physiol. Beitr. z. Kennt. d. Verdauungsvorgänge. Untersuch. der physiol. Inst. der Univ. Heidelberg, t. II, Heft 3. — in; *Arch. Zool. Exp.*, 1878.
145. — Ueber die Enzyymbildung in den Geweben u. Gefässen der Evertebraten. Untersuch. a. d. physiol. Inst d. Univ. Heidelberg, Bd II.
146. — Tetronerythrin in Schwämmen. *Centralbl. f. d. medic. Wissensch.* Jahrg. XVII, 1879.

147. — Vergleichend-physiologische Studien. Heidelberg, 1880. Abth.
148. — Vergl. physiol. Stud. an den Küsten der Adria, 2 abth.
149. — Vergl. phys. St. zu Tunis, Mentoue u. Palermo 3 Abth. Heidelberg, 1880.
150. — Vergl. physiol. Vorträge II. Grundzüge einer vergleichenden Physiologie der Verdauung. Heidelberg, 1882.
151. — Die Lipochrome der Spongien. Vergl. phys. Studien, 8°. Heidelberg, 1882. 3 Abth.
152. — Ueber das Zustandekommen der Sog. Eiweissreactionen. *Ber. Ges. Natur. Iena.*
153. — Die Beziehungen der Eiweissstoffe zu den Kohlehydraten. *Ibid.*
154. — Grundzüge einer vergleichenden Physiologie der thierischen Gerüstsubstanzen. Vergl. Physiol. Vorträge, IV, Hiedelberg.
155. — La Rétention de l'urée chez les Sélaciens, etc. *Ann. Mus. Hist. Nat. Mars. (Zoologie)* t. III, 1888.
156. — LOLKE DOKKUM. — *Pharm. Weckbl.*, 1898, n° 45.
— In : *Jour. Ph. Ch.*, 1898-2.
157. — MALFITANO G. — Protéolyse chez l'*Aspergillus niger*. *Ann. Inst. Past.*, t. XIV, 1900.
158. — Sur la protéase de l'*aspergillus niger*. *Ibid.*
159. — DE MARBAIS ET DENYS. — *La Cellule*, t. V et VI, passim.

160. — DE MÉRÉJKOVSKY C. — Nouvelles recherches sur la zoonérythrine et autres pigments animaux. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 1883.
161. — METCHNIKOFF E. — Recherches sur la digestion intracellulaire. *Ann. Ins. Past.*, t. III, 1889.
162. — PAGEL C. — Nouveau Procédé de destruction des matières organiques applicable en toxicologie. *Th. doct. ph. Univ. Nancy*, 1900.
163. — PORTIER. — Les oxydases dans la série animale. *Th. Paris*, 1897.
164. — DE REY-PAILHADE J. — Expér. montrant à la fois le pouvoir oxydant et le pouvoir réducteur des tissus. *C. R. Soc. Biol.*, 1897.
165. SCHLAGDENHAUFFEN ET PAGEL. — Sur une cause d'erreur dans le dosage de l'iode dans les tissus, etc. *Union Phar.*, t. XXXXI, 1900.
166. — STAEDELER. — *Ann.ch. Ph.*, t. CXI.
167. — THOULET. — Sur les spicules siliceux d'éponges vivantes. *C. R. Ac. Sc.*, t. XCVIII, p. 1000, 1884.
168. — TRAUBE MORITZ. — Ueber Activirung des Sauers-
toffes. *Ber. d. deutsch. Gesellsch.*, t. XV, 1882
169. — WURTZ AD. — Sur la papaïne. Contribution à l'histoire des ferments solubles. *C. R. Ac. Sc.*, t. XC, 1880 ; t. XCI, 1881.
170. — YVON. — Diastase ou amylase, sa préparation. *Rép. Pharm.* 1900.
171. — ZALASCOSTAS P. N. — Recherches sur la constitution chimique de la spongine. *Th. Parts*, 1888 ; *C. R. Ac. Sc.*, même année.

Varia

172. — FAUROT L. — Etudes sur les Actinies. *Arch. Zool Exp.*, 1895.
173. — SCHUTT FR. — Ueber das Phycoerythrin. *Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch.*, t. VI, 1888.
174. — — Neuere Beiträge zur Kenntniss des Phycoerythrins. *Ibid.*.

